

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1931

N°

396

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

GEORGES TERRIAL

Né le 12 octobre 1897, à Paris

LA

RECHERCHE ET LE DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE **des Protozoaires intestinaux** **en Coprologie clinique**

TRAVAIL DU SERVICE DU DOCTEUR BENSAUDE, A L'HOPITAL SAINT-ANTOINE

Président de Thèse : M. le Professeur BRUMPT

PARIS

IMPRIMERIE CHAIX

Rue Bergère, 20

1931

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1931

THÈSE

N°

POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR
GEORGES TERRIAL

Né le 12 octobre 1897, à Paris

LA
RECHERCHE ET LE DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE
des Protozoaires intestinaux
en Coprologie clinique

TRAVAIL DU SERVICE DU DOCTEUR BENSAUDE, A L'HOPITAL SAINT-ANTOINE

Président de Thèse : M. le Professeur BRUMPT

PARIS
IMPRIMERIE CHAIX
Rue Bergère, 20

1931

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le Doyen. M. BALTHAZARD.

I. - PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	GRÉGOIRE.
Physiologie	BINET.
Physique médicale.	STRÖHL.
Chimie médicale.	DESGREZ.
Bactériologie.	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CLERC.
Pathologie chirurgicale.	LENORMANT.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.	TIFFENEAU.
Thérapeutique.	LÉPER.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	MAURICE VILLARET.
Clinique médicale	CARNOT.
	BEZANÇON.
	ACHARD.
	MARCEL LABBÉ.
Hygiène et clinique de la première enfance.	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
	DEL BET.
Clinique chirurgicale	CUNÉO.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale.	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	PIERRE DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la tuberculose	LÉON BERNARD.
Professeur sans chaire	MAUCLAIRE.



II. - AGRÉGÉS EN EXERCICE

	MM.
Neurologie et psychiatrie.	ALAJOUANINE.
Pathologie médicale	AUBERTIN.
Pathologie médicale	BÉNARD (HENRI).
Pathologie chirurgicale	BROCQ.
Pathologie médicale	BRULE.
Pathologie chirurgicale	CADENAT.
Pathologie médicale	CATHALA.
Pathologie médicale	CHABROL.
Physiologie	CHAILLEY BERT.
Pathologie médicale	CHEVALLIER.
Pathologie chirurgicale.	DE GAULART D'ALLAINES.
Physique.	DOGNON.
Pathologie médicale	DONZELOT.
Obstétrique	ÉCALLE.
Urologie	FEY.
Pathologie expérimentale	GARNIER.
Bactériologie.	GASTINEL.
Pathologie chirurgicale	GATELLIER.
Histologie	GIROUD.
Pathologie médicale	HARVIER.
Pharmacologie.	HAZARD.
Anatomie	HOVELACQUE.
Anatomie pathologique	HUGUENIN.
Pathologie médicale	HUTINEL.
Hygiène	JOANNON.
Chimie biologique.	LABBÉ (HENRI).
Pathologie médicale	LAROCHE (GUY).
Oto-rhino-laryngologie	LEMAÎTRE.
Pathologie chirurgicale.	LEVEUF.
Neuro-psychiatrie	LEVY-VALENSI.
Pathologie médicale	LIAN.
Histologie	MILLOT.
Pathologie chirurgicale.	MONDOR.
Pathologie médicale	MOREAU.
Pathologie chirurgicale.	MOULONGUET.
Pathologie chirurgicale.	MOURE.
Histologie	MULON.
Anatomie pathologique	OBERLING.
Anatomie	OLIVIER.
Médecine légale	PIÉDELIEVRE.
Obstétrique	PORTES.
Pathologie chirurgicale.	QUÉNU.
Physiologie	RICHET.
Chimie biologique.	SANNIÉ.
Dermatologie et syphiligraphie.	SÉZARY.
Pathologie médicale	VALLERY-RADOT (Pasteur).
Obstétrique	VAUDESCAL.
Ophtalmologie.	VELTER.
Histologie	VERNE.
Obstétrique	VIGNES.

III. - AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

	MM.
Pharmacologie	BUSQUET.
Obstétrique	GUENIOT.
Obstétrique	LEQUEUX.
Parasitologie	NEVEU-LEMAIRE.
Histologie	RETTERER.
Physique	ZIMMERN.
Anatomie pathologique	LEROUX.

IV. - AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

	MM.
Clinique médicale	{ ABRAMI. CHIRAY. DEBRÉ. DUVOIR. FIESSINGER. LAIGNEL-LAVASTINE. BASSET.
Clinique chirurgicale	{ CHEVASSU. HEITZ-BOYER. MATHIEU. MOCQUOT. PROUST. SCHWARTZ. LE LORIER.
Clinique obstétricale	{ LÉVY-SOLAL. METZGER.

V. - CHARGÉS DE COURS

	MM.
Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail, les muti- lés de guerre et les infirmes adultes	MAUCLAIRE, prof. s. chaire.
Stomatologie	FREY.
Éducation physique	CHAILLEY-BERT, agrégé.
Radiologie clinique	LEDoux-LEBARD.
Puériculture	WEILL-HALLÉ.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A TOUS LES MIENS

En hommage de profonde reconnaissance et d'affection.

A mon Président de Thèse

Monsieur le Professeur E. BRUMPT

Membre de l'Académie de Médecine

Professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine

Secrétaire général de l'Institut de Médecine Coloniale

Directeur de l'École de Malarialogie

Officier de la Légion d'Honneur

En témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Docteur R. BENSAUDE

Médecin de l'Hôpital Saint-Antoine

Officier de la Légion d'Honneur

En témoignage de reconnaissance pour sa paternelle sollicitude.

Ce sera la fierté de ma vie d'avoir travaillé dix ans à ses côtés.

A Monsieur le Professeur H. HERISSEY

Pharmacien de l'Hôpital Saint-Antoine

Officier de la Légion d'Honneur

A Monsieur le Docteur A. CAIN

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'Honneur

INTRODUCTION

Les énormes mouvements d'hommes de races différentes qui eurent lieu pendant la guerre, amenèrent, entre autres résultats, l'éclosion, en France, d'un grand nombre de cas de dysenteries amibiennes dans les populations aussi bien civile que militaire. Puis, les années passant, les épisodes aigus devinrent plus rares : on les constatait, alors, surtout chez les jeunes gens libérés du service militaire, à leur retour du Maroc ou de la Syrie.

Enfin, à l'heure actuelle, l'accès dysentérique est devenu exceptionnel. Ce ne sont plus des dysentériques qu'on observe, mais des malades atteints de troubles intestinaux chroniques pouvant prendre les masques les plus divers.

Il semble que la situation se soit stabilisée, mais dans un état où le parasitisme reste riche et varié. Sommes-nous en présence d'un état nouveau, résultat de la guerre, ou sommes-nous revenus au régime d'avant 1914? Question difficile à élucider, car nous manquons de points de comparaison : avant la guerre on s'intéressait peu à ces questions. Mais rien ne prouve que sous les « entérites » et les « colites » d'autrefois ne se cachaient pas tout autant d'amiboses camouflées qu'aujourd'hui. Auquel cas il faudrait admettre qu'un parasitisme implanté de vieille date, sur notre sol, réactivé par des apports étrangers, au cours de la guerre, aurait retrouvé, par la suite, son équilibre ancestral.

Toujours est-il, que dans son état actuel, le parasitisme en France est relativement intense.

Voici, à ce sujet, un essai de statistique portant sur 568 malades récemment examinés. Il s'agit évidemment de malades venant consulter pour troubles gastro-intestinaux :

Parmi eux, 250 sont parasités par des protozoaires, soit 44 % se décomposant ainsi :

Flagellés 16 %	{	<i>Giardia intestinalis</i>	12 %
		<i>Trichomonas intestinalis</i> . .	3 %
		<i>Chilomastix mesnili</i>	3,5 %

Amibes 36 %	{	<i>Amibes du type dysente-</i>	
		<i>rique</i>	11 %
		<i>Entamœba coli</i>	21 %
		<i>Endolimax nana</i>	9 %
		<i>Pseudolimax butschlii</i>	1,4 %
		<i>Dientamœba fragilis</i>	3 %

Mais en même temps que les signes cliniques sont devenus plus discrets, les parasites sont devenus plus difficiles à trouver : nous ne sommes plus à l'époque où il suffisait de regarder des selles entre lame et lamelle pour voir grouiller les amibes hémato-phages. Aujourd'hui, les parasites se cachent souvent chez des sujets constipés, et, pour les trouver, il faut les chercher, et, parfois, les chercher longtemps.

Il est donc de toute nécessité de posséder des techniques sur lesquelles on puisse compter. Car, qu'il s'agisse de dépister des porteurs de germes, ou d'établir des statistiques, tout repose sur la valeur des procédés employés.

D'autre part un grand nombre de demandes de pensions sont, journellement, présentées devant les Conseils de Réforme pour dysenteries anciennes contractées aux armées. Malgré les années écoulées depuis la guerre, ce que nous savons de l'amibe dysenterique nous oblige à reconnaître qu'il n'est pas impossible que des sujets contaminés à cette époque, même après une longue période de tolérance ou de rémission, aient des troubles intestinaux actuels en rapport avec leur contamination ancienne. Mais on conçoit les difficultés qu'on peut éprouver à faire la filiation. C'est pourquoi, en dehors de toutes considérations théoriques, un fait compte surtout : la présence d'amibes dysenteriques dans les selles. Donc, là encore, la technique constitue une question primordiale.

Tous nos efforts doivent donc tendre à perfectionner nos méthodes de laboratoire. Nous sommes encore à la période des hésitations. Et pourtant, plus que jamais, nous aurions besoin de procédés permettant non seulement de trouver mais d'identifier, avec certitude, les parasites.

LES PROTOZOAIRES INTESTINAUX

Les protozoaires intestinaux intéressant le médecin appartiennent aux classes des infusoires, des flagellés et des rhizopodes.

INFUSOIRES

Nous ne citerons que pour mémoire le *Balantidium coli*, parasite exceptionnel dans nos pays, et facilement reconnaissable.

FLAGELLÉS

Certains flagellés sont rares :

Enteromonas hominis,
Embabdomonas intestinalis.

D'autres, au contraire, se rencontrent plus souvent :

Chilomastix mesnili (syn. *Tetramitus*),
Trichomonas intestinalis,
Giardia intestinalis (syn. *Lamblia*).

Chilomastix mesnili et *Trichomonas intestinalis*. — Ce sont des parasites assez fréquents dans certaines selles de diarrhée.

Certains auteurs envisagent un rôle pathogène possible (WITTINGHAM, pour les *Chilomastix*. LE NOIR et R. DESCHIENS pour les *Trichomonas*). Mais ce sont des parasites généralement bien inoffensifs. Et il faut plutôt penser qu'ils se développent lorsque le milieu intestinal leur devient favorable, et qu'ils ne sont que les témoins des modifications intestinales sans être la cause des troubles observés. J.-C. ROUX, en 1924, rapporte trois cas d'infection à *Chilomastix mesnili* guéris par simple modification du milieu intestinal : déshydratation au moyen d'un mucilage (*coréïne*).

Giardia intestinalis. — Découvert en 1859 par LAMBL, ce parasite a été étudié depuis par de nombreux auteurs (DAVAINE, GRASSI, BLANCHARD, KOFFOID, GOIFFON et J.-C. ROUX). Mais c'est surtout R. DESCHIENS qui, en 1921, apporta les renseignements les plus précis, concernant les « entérites à Giardia ».

Par la suite, ce parasite fut assez souvent rencontré dans le liquide duodénal retiré par tubage. On s'aperçut même que, au cours de l'épreuve de Meltzer-Lyon, la bile B était généralement plus riche en parasites que la bile A. De là à conclure que la vésicule était le véritable gîte des Giardia, il n'y avait qu'un pas. Et, de fait, on a trouvé, au cours d'interventions chirurgicales (mais rarement, il est vrai) des vésicules contenant des Giardia. (WESTPHAL et GEORGI, 1923; SMITHIES, 1928).

A la notion première « d'entérite à Giardia » venait donc s'ajouter celle de « cholécystite à Giardia ».

Mais le seul fait de trouver des parasites, soit dans la bile, soit dans les selles, suffisait-il à faire admettre leur rôle pathogène? Assurément non. Il fallait donc trouver des arguments plus rigoureux. Or ces arguments sont de différents ordres :

1° *Arguments cliniques.* — On trouve des porteurs de Giardia atteints de troubles intestinaux ou vésiculaires.

A la vérité, on est obligé de reconnaître que le nombre des malades est bien faible par rapport au nombre des parasités, car, comme le fait remarquer le Professeur BRUMPT, « sur dix individus parasités par les Giardia, un seul présente des troubles intestinaux spécifiques dus à ces flagellés ». Mais c'est là une

constatation d'ordre général au cours du parasitisme qui ne peut pas faire rejeter la notion de pathogénicité du parasite.

Il ne faut pas oublier, cependant, combien peuvent être trompeurs les arguments cliniques, en pareille matière. Car on peut assister aux faits les plus contradictoires en apparence. Ainsi, dans une observation déjà publiée avec A. HOROWITZ et J. SAUTET, nous montrions un malade diarrhéique parasité par *Giardia intestinalis*, *Chilomastix mesnili*, *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, sans compter les Trichocéphales, Blastocystis et Levures. Or, à la suite d'un traitement émétino-arsenical, tous les protozoaires disparurent, à l'exception des *Giardia*, toujours en très grand nombre. Et pourtant, le malade avait vu cesser tous ses troubles, il reprenait du poids et se considérait comme guéri.

Voici, au contraire, un autre malade, M. L., qui se plaint de troubles vésiculaires et intestinaux. Ses selles et sa bile B contiennent de nombreux *Giardia*. Un traitement intensif a fini par le débarrasser de ses parasites (depuis un an, malgré de très nombreux examens de selles et de liquide duodénal, il a été impossible de retrouver un *Giardia*), et pourtant ses troubles persistent.

2^o *Arguments expérimentaux et anatomo-pathologiques.* — Ils sont, malheureusement, tout aussi discutables. Avec A. HOROWITZ et J. SAUTET, nous croyons que lorsqu'on injecte « par voie buccale ou rectale des matières fécales à un animal réceptif, on inocule, en même temps que le parasite à étudier, tous les éléments associés (bactéries, virus invisibles possibles, levures, matériaux chimiques capables de modifier le milieu intestinal, etc.). Or, par la suite, on ne se préoccupe que du parasite, et aucunement des éléments associés. On ne considère qu'un seul facteur, celui dont on veut prouver le rôle pathogène alors que, quantitativement, il ne constitue que la partie la plus infime du matériel inoculé ».

Et si, comme dans le cas des *Giardia*, cette épreuve ne peut pas être confirmée par la constatation d'une lésion anatomique

spécifique (le cas est donc différent de celui de la dysenterie expérimentale du chat par *Entamœba dysenterix*), on conçoit tous les doutes qu'on peut émettre. Car les termes de lésions inflammatoires, ulcéreuses, érosives observées chez les animaux morts après inoculations nous semblent être trop vagues pour prétendre à une place dans le cadre anatomo-pathologique.

Or, il n'est nullement dans nos intentions d'essayer de prouver l'inocuité des *Giardia* pour l'homme ou les animaux. Nous voulions simplement rappeler combien l'expérimentation était délicate en parasitologie, et quelle prudence il fallait observer dans l'interprétation des faits.

Cependant, si les statistiques, les observations cliniques et les inoculations constituent des faits discutables en eux, leur réunion forme un faisceau de présomptions qu'on n'a pas le droit de négliger. — Malheureusement, à l'heure actuelle, l'infection à *Giardia* résiste à la thérapeutique et sa guérison est une exception.

RHIZOPODES

Le seul ordre des Rhizopodes intéressant le médecin est celui des Amibiens.

Les amibes. — Les amibes intestinales appartiennent à quatre genres :

Entamœba,
Endolimax,
Pseudolimax,
Dientamœba.

Et si les parasitologistes sont d'accord sur ces genres, il n'en est pas de même en ce qui concerne les espèces. C'est pourquoi, sans pouvoir prendre partie dans les discussions actuellement en cours, nous ne signalerons que les espèces dont l'individualité semble, pour le moment, reconnue par la plupart des auteurs.

Ces espèces se répartissent de la manière suivante :

Genres.	Espèces.
<i>Entamœba</i>	{ <i>coli</i> , <i>dysenterix</i> , <i>dispar</i> , <i>hartmanni</i> ,
<i>Endolimax</i>	<i>nana</i> ,
<i>Pseudolimax</i>	<i>butschlii</i> ,
<i>Dientamœba</i>	<i>fragilis</i> .

Entamœba. — C'est un genre dont l'histoire est pleine d'intérêt, puisque l'*Entamœba dysenterix* en fait partie, mais, malheureusement, encore bien confus, à cause des difficultés qu'on rencontre dans l'identification de certaines de ses espèces.

Pour bien comprendre la question, il est nécessaire de distinguer deux catégories d'amibes bien distinctes :

D'une part, l'*Entamœba coli*, dont les caractères sont suffisamment tranchés pour que, généralement, on puisse la reconnaître sans erreurs.

D'autre part, un groupe comprenant *Entamœba dysenterix*, *Entamœba dispar*, *Entamœba hartmanni*, pour lesquelles on est malheureusement, obligé d'être beaucoup moins catégorique.

Entamœba coli. — Bien qu'ayant été signalée comme pouvant être pathogène par certains auteurs (ORTICONI, CAZZOLA, DE GIRAUD et LE BOURDELES, JAUSION et DEKESTER, HAMMERSCHMIDT, CASSAGRANDE et BARBAGELLO), il semble bien que l'*Entamœba coli* soit un parasite dénué de toute action nocive, car, si on a constaté, parfois, la présence de ce parasite dans la profondeur de la muqueuse intestinale, il n'y avait jamais eu pénétration active, mais migration à la faveur de lésions préexistantes. D'ailleurs, les recherches expérimentales ont toujours échoué chez le chat (DOBELL, CRAIG, QUINCKE et ROSS) et chez l'homme (WALKER et SELLARD, en 1913, tentèrent d'infester avec des kystes d'*Entamœba coli* 20 prisonniers : 17 devinrent parasités, sans jamais présenter le plus léger

symptôme intestinal, les 3 autres ne contractèrent pas l'infection).

L'*Entamœba coli* se montre donc incapable, à elle seule, de provoquer des lésions intestinales. Et sa présence serait l'indice d'une altération du milieu intestinal, altération créant des conditions favorables au développement des protozoaires. (Pour R. GOIFFON, la présence de nombreuses *Entamœba coli* signifierait : putréfactions cæcales.)

Mais, une fois installés à la faveur de troubles antérieurs, rien ne prouve que ces protozoaires ne puissent jouer un rôle d'infection secondaire capable de perpétuer des lésions dont l'origine est étrangère au parasitisme, mais dont la chronicité pourrait en être le fait.

Et ceci expliquerait peut-être le rôle bienfaisant du traitement antiparasitaire chez nombre de colitiques porteurs d'*Entamœba coli*.

Entamœba dysenteriae. — L'*Entamœba dysenteriae* est l'agent pathogène de l'amibose. Son rôle a été démontré de différentes manières :

1° On trouve l'amibe dysentérique dans les lésions existant au cours de l'amibose;

2° Les selles contenant des amibes dysentériques sont seules capables de donner au chat, en injections intrarectales, une dysenterie amibienne type, avec lésions caractéristiques de l'intestin. Les mêmes selles privées de leurs amibes par filtration sur flanelle (KARTULIS) ou par chauffage à 45° (MARCHOUX) ne peuvent plus la provoquer.

L'*Entamœba dysenteriae* est donc une amibe bien particulière qu'il y aurait intérêt à savoir identifier avec certitude. Malheureusement, la chose n'est pas toujours aisée à cause du polymorphisme résultant du cycle évolutif particulier auquel est soumise cette amibe.

Bien que nous soyons encore très mal renseignés sur tous les stades de cette évolution, on admet, généralement, qu'elle peut se poursuivre de deux manières différentes et constituer un « cycle

normal » ou cycle non pathogène et un « cycle anormal » ou cycle pathogène.

A. *Cycle normal*. — Les amibes de petite taille (type *minuta*) se multiplient par scissiparité à la surface de la muqueuse, sans la léser. Puis, après un certain nombre de divisions, elles s'enkystent. Les kystes sont rejetés avec les selles et servent d'agent de conservation et de diffusion de l'espèce. Ingerés par un individu indemne, ils donnent naissance à des amibes végétatives et le cycle recommence. Pendant toute cette période, l'*Entamœba dysenteriae* est inoffensive et elle ne serait pas plus dangereuse que l'*Entamœba coli* si, subitement, pour une raison inconnue elle ne pouvait se transformer et évoluer suivant un autre cycle.

B. *Cycle anormal*. — Les amibes grandissent, deviennent très actives, acquièrent la possibilité de traverser la muqueuse, de former un abcès, qui, en s'ouvrant dans la lumière intestinale, crée la lésion caractéristique « en bouton de chemise ». En même temps, l'amibe est devenue hématophage et on peut la voir, au microscope, bourrée de globules rouges.

Ces amibes hématophages se reproduisent par scissiparité, et, à ce moment, les kystes sont généralement absents.

Cette période peut durer un temps très variable, et, soit sous l'influence d'un traitement, soit spontanément, les symptômes peuvent disparaître et donner l'illusion de la guérison, l'amibe reprenant son cycle normal, ou bien se prolonger par une succession de crises entrecoupées de périodes de rémission, auquel cas on peut trouver dans les selles à la fois des amibes hématophages et des kystes.

Cette diversité d'évolutions de l'amibe dysentérique explique que, cliniquement, l'amibose puisse se présenter sous des formes aussi variées. Car l'accès dysentérique aigu et l'état de porteur sain constituent les termes extrêmes d'une longue gamme comportant les états les plus divers. On peut même observer des localisations extra-intestinales chez des sujets n'ayant jamais présenté le moindre trouble intestinal.

Il y a longtemps qu'on a essayé de pénétrer les raisons de la métamorphose qui, subitement, peut transformer une amibe inoffensive en amibe virulente. Mais, jusqu'à présent, le mystère reste entier.

Un fait est certain, c'est que, dans les pays tropicaux, à nombre égal de sujets parasités, l'accès aigu est beaucoup-plus fréquent que dans les pays tempérés, où les cas subaigus ou chroniques sont surtout la règle.

Pour expliquer ces anomalies, on a invoqué tour à tour l'existence de maladies intercurrentes, d'associations parasitaires, de moindre résistance du sujet, etc. Il est probable qu'il n'y a pas de raison unique, mais plutôt toutes sortes de causes qui peuvent jouer ensemble. Parmi celles-ci, le rôle de certaines flores microbiennes locales est peut-être à envisager. Mais il ne semble pas qu'il s'agisse d'une cause venant de l'amibe elle-même, et qu'on puisse parler de souches plus ou moins virulentes.

Voici, par exemple, la famille G... composée du père, de la mère et d'une fille. Habitant le centre de la France, ces trois personnes, en août 1928, vont passer trois semaines de vacances, au bord de la mer, dans un petit pays peuplé de marins et de coloniaux retraités. Deux mois après, le père et la fille sont pris de diarrhée sanglante (une dizaine de selles par jour).

Chez la fille, cet accès dure un mois, puis tout rentre dans l'ordre, spontanément.

Chez le père, au contraire, les accidents dysentériques continuent sans arrêt, et quand, en 1929, il vient consulter à l'Hôpital Saint-Antoine, il a maigri de 15 kilogrammes. A ce moment, ses selles contiennent de nombreuses amibes hématophages.

Quant à la fille qui était dans un état de parfaite santé apparente, elle hébergeait, au même moment, de nombreux kystes à 4 noyaux.

La mère n'était pas parasitée.

Les trois membres de cette même famille ont donc réagi d'une manière toute différente vis-à-vis du même parasite contracté à la même source. Et on est amené à penser que, vraisemblable-

ment, l'amibe ne choisit pas son cycle évolutif, mais, bien plutôt, se le voit imposer par son hôte.

On constate aussi que cette résistance de certains organismes n'est pas une chose immuable. Les circonstances peuvent se modifier, et la tolérance disparaître. Dans une statistique publiée avec MM. R. BENSAUDE et A. CAIN, nous donnions plusieurs exemples de longue tolérance (10 ans parfois) se terminant cependant par une atteinte de dysenterie.

Il n'y a donc pas d'immunisation, et les sujets même les plus réfractaires en apparence ne sont jamais à l'abri des retours offensifs et des complications.

On peut donc trouver chez les porteurs d'amibes dysentériques des gens sains et des malades à des degrés divers.

Si, en cas de dysenterie, on est sûr du rôle des amibes, il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit de troubles chroniques. Car on peut alors se demander si les troubles sont le fait d'une amibose, ou, au contraire, s'il ne s'agit que de troubles banaux surajoutés chez un porteur tolérant, l'amibe étant, dans ce dernier cas, totalement étrangère à la symptomatologie.

C'est une question à laquelle il est toujours difficile de répondre avec certitude. Néanmoins, on peut essayer de se faire une opinion en usant de l'*épreuve thérapeutique*.

Il existe deux manières de réaliser cette épreuve :

1° Ou bien on emploie des médications variées (arsénicaux, dérivés iodés, etc... associés ou non à l'émétine),

2° Ou bien on emploie exclusivement l'émétine.

Dans le premier cas, l'action thérapeutique est extrêmement complexe. Des quantités d'états différents peuvent être améliorés. Par conséquent, une telle épreuve est dénuée de toute valeur diagnostique.

Dans le deuxième cas, au contraire, on possède un moyen qui, sans donner la certitude, a la valeur d'une forte présomption. Car l'émétine, si elle agit comme hémostatique au cours de certaines hémorragies (hémoptysies en particulier), semble parfaitement inefficace contre les syndromes hémorragiques de

l'intestin étrangers à l'amibose. Et l'arrêt d'une diarrhée sanglante par l'émétine en dehors de tout parasitisme constaté est un fait toujours troublant qui doit faire craindre d'avoir mal cherché les amibes. Et, réciproquement, lorsque le traitement émétinien échoue chez un porteur d'amibes présentant des troubles dysentériques, il faut identifier avec soin les amibes observées. Car, sans vouloir nier l'existence des amibes dysentériques émétino-résistantes, on peut dire qu'elles sont rares. Et, avant d'affirmer leur présence il faut être sûr que les amibes incriminées sont bien des amibes dysentériques et non des amibes banales (*Entamoeba coli*, *Endolimax*).

Mais là où cette épreuve acquiert son maximum de valeur, c'est lorsqu'en dehors de toute hémorragie, une amélioration manifeste survient dès les premières injections d'émétine.

Avec A. HOROWITZ, nous avons eu l'occasion de suivre un malade dont l'histoire nous semble constituer le prototype de l'épreuve émétinienne positive.

Il s'agissait d'un sujet qui, en dehors de tout syndrome intestinal, présentait un ictère à répétition durant depuis 2 ans, accompagné d'un état asthénique marqué. Dans le but de découvrir la cause de cet ictère, de nombreuses recherches de laboratoire avaient été pratiquées, mais sans résultat. Et ceci jusqu'au jour où un examen de selles nous permit de découvrir de nombreux kystes à 4 noyaux.

Un traitement à l'émétine fut alors institué, sans grande conviction d'ailleurs. Pourtant, au bout de la première série de piqûres, l'ictère disparaissait et le malade reprenait des forces.

Et depuis cette époque (qui remonte à 2 ans), jamais l'ictère n'est revenu, et l'état général est excellent.

L'épreuve thérapeutique par l'émétine peut donc, dans une certaine mesure, nous renseigner sur l'origine des troubles observés. Positive, elle indique que les désordres intestinaux ont de grandes chances d'être le fait des amibes, et que, par conséquent, celles-ci étaient pathogènes. Négative, au contraire, elle peut donner à penser que les troubles sont étrangers à l'amibose.

Mais il ne faut pas oublier que, si l'épreuve émétinienne nous

renseigne sur l'étiologie des symptômes, elle est muette sur l'identification parasitologique de l'espèce amibienne. En effet, on peut trouver des porteurs tolérants atteints d'une affection intestinale extra-amibienne, et ne réagissant par conséquent pas à l'émétine, bien que parasités par d'authentiques amibes pathogènes.

Entamœba dispar, Entamœba hartmanni. — Depuis longtemps, les parasitologistes ont été frappés par la disproportion qui existe, dans certains pays, entre le grand nombre de porteurs de kystes à 4 noyaux et le petit nombre de sujets présentant des accidents dysentériques. Aussi certains d'entre eux se demandèrent-ils si tous ces kystes à 4 noyaux appartenaient bien à la même espèce d'amibes, ou si, au contraire, une amibe non pathogène ne pouvait pas donner des kystes en tous points semblables à ceux de l'*Entamœba dysenterix*. Et ils essayèrent de résoudre la question en pratiquant des inoculations sur le jeune chat (DARLING 1912, SELLARDS et BOETZER 1915, Sohei SHIMURA, WAGENER et THOMSON 1924).

Mais c'est surtout le Professeur BRUMPT qui, en 1925, approfondit cette étude. Et il constata que, la plupart du temps, l'inoculation de kystes ou de formes végétatives provenant de porteurs sains provoquait une légère diarrhée chez l'animal, avec présence d'amibes non hématophages. Et l'animal non seulement ne mourait pas, mais guérissait rapidement. De plus, le même animal, infecté ensuite par des *Entamœba dysenterix* provenant de sujets dysentériques, contractait une dysenterie mortelle, avec présence de lésions caractéristiques du gros intestin.

Or si l'on admet que, chez le jeune chat, l'*Entamœba dysenterix* ne peut évoluer que sous son cycle anormal, il fallait donc conclure de ces expériences à l'existence de 2 sortes d'amibes : l'une pathogène, et l'autre non pathogène pour le chat. De plus, on constatait que l'amibe non pathogène ne conférait pas au chat une immunité contre l'infection postérieure par l'amibe pathogène.

Cette amibe non pathogène, le Professeur BRUMPT l'appelle *Entamœba dispar*, et il la considère comme une espèce bien particulière, incapable de se transformer en espèce pathogène,

et non pas comme une forme de virulence atténuée propre aux pays à climat tempéré. — Car, de même qu'à Paris, un chat qui a résisté à l'inoculation d'*Entamœba dispar* peut mourir après inoculation d'*Entamœba dysenteriae*, toutes conditions climatiques restant égales, de même un porteur d'*Entamœba dispar* peut impunément se rendre aux colonies, sans contracter de dysenterie, à condition de séjourner dans des zones non contaminées, mais tout en restant aussi apte qu'un autre à la contracter là où elle existe.

On constata aussi que parmi les kystes à 4 noyaux ne conférant par la dysenterie au chat, on trouvait assez souvent des kystes de petite taille (3 à 10 μ) correspondant aux kystes d'*Entamœba hartmanni*.

D'après cette conception, les *Entamœba dispar* et *Entamœba hartmanni* seraient donc des amibes incapables d'évoluer selon un cycle anormal comme l'*Entamœba dysenteriae*, et, par conséquent, de présenter un stade offensif.

Or, morphologiquement, il est impossible de distinguer ces trois amibes, car, en dehors de la question de taille en ce qui concerne l'*hartmanni*, leurs kystes respectifs ont la même structure, et leurs formes végétatives sont identiques aux formes non pathogènes de l'*Entamœba dysenteriae*.

Une seule méthode permet de les distinguer, c'est l'inoculation au jeune chat par la technique de BOECK et DRBOHLAV (introduction rectale du matériel d'expérience avec occlusion anale de 24 ou 48 heures).

Malheureusement, c'est un procédé qu'on a rarement la possibilité d'employer à cause des difficultés multiples qu'on doit surmonter pour le réaliser :

Difficultés d'approvisionnement en chats (on ne doit employer que les jeunes, et ceux-ci ne se trouvent pas à toutes les époques de l'année).

Mortalité des chats en expérience (le plus souvent d'accidents pulmonaires consécutifs à l'anesthésie employée pour l'inoculation).

Échecs de l'expérience pour des causes inexpliquées. (Les amibes

n'ont pas végété dans le rectum du chat, et lorsqu'on enlève le tampon obturateur anal, le chat présente une légère diarrhée sans présence d'amibes dans ses déjections.)

Aussi, pour toutes ces raisons, l'inoculation du jeune chat ne peut être considérée à l'heure actuelle comme un procédé d'investigation courant.

Le résultat est que, dans la pratique journalière, il est impossible de faire une distinction entre ces amibes, qui constituent un groupe indissoluble que l'on peut appeler le groupe des amibes du *type dysentérique*, entendant par là qu'on englobe, sous un nom générique commun, un groupe disparate d'amibes morphologiquement semblables, mais d'actions pathogènes différentes.

D'ailleurs, suffit-il de constater que des kystes à quatre noyaux ont une taille inférieure à 10 μ . pour pouvoir affirmer qu'ils appartiennent à *Entamœba hartmanni*, et, partant, qu'ils sont inoffensifs? Le fait ne semble pas définitivement prouvé. Car, si on sait que l'*Entamœba coli* peut parfaitement donner naissance à des kystes nains (10 à 15 μ), il n'est nullement établi que l'*Entamœba dysenteriae* soit incapable d'en faire autant.

Voici un malade, M. L... présentant des troubles colitiques chroniques caractérisés principalement par des alternatives de constipation et de diarrhée. L'examen des selles montre la présence de nombreux kystes à 4 noyaux, de 8 μ . de diamètre. Il est donc logique de conclure à parasitisme par *Entamœba hartmanni*. Après purgation, les selles de ce même malade contiennent des formes végétatives de 12 μ ., donc formes pouvant tout aussi bien être des formes *minuta* de l'*Entamœba dysenteriae* que des *Entamœba hartmanni*.

On institue alors un traitement d'épreuve par l'émétine. Et on remarque que, dès les premières piqûres, le malade ressent un grand soulagement. Ses selles deviennent régulières, et il se considère comme guéri.

Cette observation est intéressante car elle montre qu'on peut trouver des amibes dont les kystes ressemblent aux kystes d'*En-*

Entamœba hartmanni mais qui réagissent à l'émétine comme de véritables *Entamœba dysenterix*.

S'il s'agit, ici, en réalité de kystes nains d'*Entamœba dysenterix*, l'*Entamœba dispar* n'est plus la seule cause d'erreur dans la détermination de l'espèce pathogène. Car, même pour les petites formes, le laboratoire devient incapable de faire la distinction.

Il en résulte que certains sujets seront peut-être traités sans nécessité. Mais, dans l'impossibilité de faire mieux, il est préférable de pécher par excès de prudence que de courir le risque de laisser sans soins des malades exposés à des réveils offensifs toujours impossibles à prévoir et aux complications habituelles, tout en étant des agents de dissémination.

En résumé, on peut schématiser la question des amibes du type dysentérique de la manière suivante :

Il existe deux sortes d'amibes morphologiquement semblables :

Entamœba dysenterix (pathogène). — *Entamœba dispar* et *Entamœba hartmanni* (non pathogènes). — Leur rôle semble tenir du paradoxe, car on peut trouver des amibes pathogènes chez des sujets sains et des amibes non pathogènes chez des sujets malades.

Dans le premier cas, il s'agit de sujets actuellement sains, mais exposés à tous les aléas de l'amibose.

Dans le deuxième cas, il s'agit de malades atteints d'affections diverses extra-amibiennes. Rien, pourtant, ne peut faire prévoir d'avance que les troubles observés sont étrangers au parasitisme. Il faut donc obligatoirement recourir au traitement d'épreuve. Mais, même si l'épreuve thérapeutique échoue, et si, par conséquent, on suppose que les troubles actuels sont extra-amibiens, il ne s'ensuit pas forcément que les amibes trouvées soient des *Entamœba dispar* ou des *Entamœba hartmanni*.

La conclusion pratique de tout ceci, c'est que toutes les amibes appartenant au groupe des amibes du type dysentérique doivent être pourchassées jusqu'à extermination, car, à l'heure actuelle, en dehors des cas isolés où des inoculations positives peuvent don-

ner une certitude, rien ne nous permet de distinguer les amibes dangereuses des amibes inoffensives.

Endolimax nana, **Pseudolimax butschlii**, **Dientamoeba fragilis**. — On ne peut être que très bref dans ce chapitre, car ce sont des amibes sur lesquelles on ne sait pas grand chose. Tout ce qu'on peut dire c'est qu'on les rencontre fréquemment, parfois en nombre considérable.

Assez souvent, leur présence coïncide avec des accidents diarrhéiques et disparaissent avec la sédation des troubles.

On peut aussi les trouver chez des porteurs parfaitement sains. Elles sont souvent associées à d'autres parasites.

Leur rôle pathogène est bien problématique. Il semble qu'elles se développent en abondance lorsque le milieu intestinal leur devient favorable, comme les flagellés et les *Entamoeba coli*.

Toutes les inoculations sont toujours restées négatives.

Mais, si on ne possède aucune preuve de leur pathogénicité, on n'en possède pas davantage de leur inocuité. Aussi, la sagesse commande-t-elle d'essayer de les détruire.

RECHERCHE DES KYSTES

ENKYSTEMENT

A l'exception des *Trichomonas intestinalis* et des *Dientamoeba fragilis* qu'on ne connaît qu'à l'état végétatif, tous les protozoaires signalés au chapitre précédent peuvent se présenter sous deux formes :

Une forme mobile, essentiellement fragile, ou forme végétative ;

Une forme immobile, résistante, ou kyste.

La fragilité des formes végétatives a, de tous temps, été une cause de difficultés pour leur observation. On conçoit qu'on ne puisse les trouver que dans les selles liquides ou pâteuses, car leur délicatesse de structure ne pourrait s'accommoder de la déshydratation des selles fermes ou des pressions qu'elle aurait à y subir. Les formes végétatives disparaissent donc au cours du trajet colique normal.

Les kystes, au contraire, par leur structure, peuvent résister longtemps aux agents de pression et de dessiccation. Leur recherche est donc beaucoup plus aisée. C'est pourquoi on la préfère, généralement, à celle des formes végétatives.

Cette manière d'opérer serait parfaite si, à tous moments, les protozoaires donnaient naissance à des kystes. Malheureusement, il n'en est pas ainsi. Et depuis longtemps les parasitologistes savent qu'à certains moments les kystes disparaissent des selles des sujets parasités pour reparaitre plus tard, constituant ainsi

ce qu'ils appellent les *périodes négatives*. Et on conçoit qu'il y ait là une cause d'erreur, si l'on n'y prend garde, pouvant faire croire à une guérison alors qu'il ne s'agit que d'une rémission.

C'est pourquoi des examens négatifs isolés sont sans signification. Il faut qu'ils soient répétés de nombreuses fois avant d'acquiescer une valeur. Et l'expérience montre que dans l'établissement des statistiques du parasitisme par la recherche des kystes, on est obligé de multiplier par trois les nombres trouvés après un seul examen pour avoir des résultats approchant la vérité.

Mais si cette méthode d'approximation peut paraître suffisante lorsqu'il s'agit d'une statistique, il n'en est plus de même quand on veut dépister les porteurs de parasites ou contrôler les effets d'un traitement.

Et dans ce but, il y a lieu de se demander, puisqu'un seul examen ne suffit pas à mettre hors de cause le parasitisme, combien de fois il faudra examiner les selles avant de pouvoir espérer un résultat acceptable. R. DESCHIENS conseille de faire une recherche journalière pendant huit jours consécutifs. De cette manière, on arrive certainement à approcher d'assez près la vérité. Mais, dans la réalisation pratique, on peut se heurter à certaines difficultés : il faut que le malade apporte de la bonne volonté et accepte de faire, tous les jours, un prélèvement séparé. Car s'il se borne à remettre, le huitième jour, un mélange de huit échantillons pour faire un examen global, c'est au détriment de la sensibilité : on conçoit, en effet, que si l'émission de kystes ne s'est produite qu'une seule fois pendant la durée de l'expérience et en quantité minime, la dilution pourra être telle dans le mélange final que les kystes risqueront fort de passer inaperçus. Et, de plus, avec certains malades, peut-on être toujours sûr que la récolte a été faite consciencieusement et que les selles apportées correspondent réellement au mélange de huit prélèvements différents ?

Et puis, pour que cette méthode soit parfaite, il faudrait surtout être certain qu'en aucun cas les périodes négatives ne puissent excéder huit jours. Et ce dernier point ne semble pas avoir été jamais prouvé.

A la vérité, les facteurs qui président à la transformation des formes végétatives en kystes nous sont totalement inconnus. Il arrive parfois que dans des cultures d'amibes on observe la présence de kystes. Mais ils se sont formés sans qu'on sache pourquoi. Et on n'a jamais encore pu, malgré de nombreuses tentatives (variations de pH, introduction de substances chimiques telles que acides aminés, indol, etc.,) arriver à transformer à volonté des formes végétatives en kystes. Nos connaissances à ce sujet se bornent à des constatations :

Le plus souvent, les kystes se rencontrent dans les selles mouillées. Aussi s'est-on demandé si l'enkystement était lié à la consistance du milieu environnant, l'amibe se transformant en kyste pour résister à la déshydratation qui lui serait fatale. Or, on sait qu'on peut aussi trouver des kystes dans les selles pâteuses et parfois même liquides.

Et d'ailleurs l'expérience montre que s'il suffit de purger un porteur de kystes pour obtenir des formes végétatives, la réciproque n'est pas vraie, et qu'il ne suffit pas de constiper un diarrhéique porteur de formes végétatives pour obtenir des kystes. Dans ce dernier cas, les formes végétatives, entraînées par le courant intestinal, vivent tant que la consistance du milieu le leur permet et finissent par mourir et disparaître sans avoir pu s'enkyster.

Il est indéniable que certaines souches d'amibes ont plus de tendances à l'enkystement que d'autres. On s'en rend compte au cours des cultures. Mais dans l'histoire de la famille G... (page 20) on remarque que deux sujets parasités à la même source sont porteurs, l'un de kystes, l'autre de formes végétatives. Ce qui semblerait indiquer que, en plus des aptitudes propres du parasite, il faut envisager aussi des causes trouvant leur source dans l'hôte lui-même. A moins que la flore microbienne ou le milieu intestinal ne soient aussi des facteurs inconnus de cette transformation.

Toujours est-il qu'on peut dire que l'enkystement est soumis à des lois mystérieuses. Pour que celui-ci se produise, certaines conditions doivent être obligatoirement réalisées, mais conditions

qui n'existent pas toujours chez tous les sujets. Et de même que des amibes pathogènes peuvent être tolérées des années, toute une vie même par certains sujets, de même les conditions obligatoires de l'enkystement peuvent probablement faire défaut pendant des temps très variables. Dans ces conditions, on se demande si la période de recherches de huit jours préconisée par R. DESCHIENS, bien que généralement amplement suffisante, ne peut pas, dans certains cas, être considérablement trop courte.

Mais, en dehors des causes d'erreur d'ordre théorique, la plus grande source de résultats erronés réside dans les difficultés pratiques déjà signalées (surcroît de travail, manque de bonne volonté de la part des malades) qui font que, trop souvent, on est obligé de se contenter d'un, deux ou trois examens au plus et, dans ces conditions, un lot important d'individus parasités peut rester ignoré. D'après nos résultats, nous évaluons que sur 100 sujets parasités par des amibes, une soixantaine, au minimum, passe inaperçue, si on se contente de la recherche des kystes.

Mais, en dehors même de toute période négative, les kystes sont souvent suffisamment rares pour qu'on n'arrive pas à les trouver par les examens directs. On est alors obligé d'avoir recours aux procédés d'enrichissements.

PROCÉDÉS D'ENRICHISSEMENTS

Les enrichissements ont pour but de rassembler les kystes dans un petit volume, et, par suite, de faciliter leur recherche.

Les méthodes les plus employées consistent, essentiellement, à traiter les matières fécales par une solution acide propre à dissoudre les savons, les phosphates, les sels de calcium, la mucine et la majeure partie des albumines; puis, après élimination des matières grasses (acides gras et graisses neutres) par l'éther sulfurique, à centrifuger.

En France, on emploie surtout les procédés de Telemann (différemment modifiés), et de Carles-Barthélemy.

I. Méthode de Telemann-Langeron. — 1° Diluer les matières dans de l'eau physiologique pour les transformer en une pâte très fluide. (On peut faire cette dilution en triturant les selles dans un verre au moyen d'un agitateur, ou bien en les agitant avec des billes de verre dans un flacon bouché.)

2° On peut tamiser la dilution sur une toile métallique à mailles de 1 millimètre (N° 25) pour la débarrasser des fragments grossiers qui gêneraient les autres opérations. Mais on sait, aujourd'hui, que les tamis même à larges mailles peuvent retenir des kystes. C'est pourquoi, certains préfèrent laisser les grosses particules se sédimenter spontanément (pendant une minute environ).

3° Introduire le filtrat ou la partie surnageante (en cas de sédimentation spontanée) dans un tube à centrifuger. Ajouter un volume égal d'acide chlorhydrique au demi. Agiter et laisser reposer quelques minutes.

4° Ajouter au mélange acide la moitié de son volume d'éther sulfurique, et émulsionner finement.

5° Centrifuger.

6° Examiner le culot au microscope.

II. Méthode de Telemann-Rivas. — Dans ce procédé, on emploie, à la place d'acide chlorhydrique, de l'acide acétique à 5 %, dans le but de moins altérer les kystes.

1° Triturer les selles avec la solution d'acide acétique à 5 %.

2° Laisser déposer pendant 1 minute ou tamiser.

3° Introduire la partie surnageante ou le filtrat dans un tube à centrifuger et ajouter un volume égal d'éther sulfurique. Emulsionner finement.

4° Centrifuger.

5° Examiner le culot au microscope.

III. Méthode de Telemann modifiée par Garin, Doubrouw et Mounier. — Cette méthode consiste à traiter en un seul temps la dilution des selles par un mélange d'acide chlorhydrique et d'éther.

Réactif de Telemann modifié. — A 30 cc. d'acide chlorhy-

drique ajouter par petites portions et en agitant sous un filet d'eau pour refroidir, 80 cc. d'éther sulfurique. Le mélange, d'abord limpide, à la fin, se sépare en deux couches. Agiter soigneusement au moment de l'emploi.

1° Triturer les selles dans 15 à 20 fois son poids d'eau.

2° Laisser déposer une minute.

3° Décantier la partie surnageante dans un tube à centrifuger (environ 10 cc. de liquide), et ajouter 3 à 4 cc. de réactif de Telemann modifié. Agiter vigoureusement.

4° Centrifuger.

5° Examiner le culot au microscope.

IV. Méthode de Carles-Barthélemy. — 1° Triturer les selles dans du sérum physiologique formolé :

Formol à 40/100.	100 cc.
Eau physiologique	q. s. pour 1000 cc.

2° Laisser déposer une minute, ou tamiser.

3° Introduire le liquide dans un tube et centrifuger pendant une minute à 1.800 tours.

4° Décantier et agiter le culot avec le liquide suivant dont la densité doit être amenée à 1047 :

Acide citrique	12 grammes.
Eau	86 —
Formol à 40/100.	2 —

5° Ajouter 2 à 3 cc. d'éther et émulsionner finement.

6° Centrifuger pendant 30 secondes. La majeure partie des éléments fécaux est remontée à la surface avec l'éther, ne laissant au fond du tube qu'un culot insignifiant.

7° Dilacérer le voile supérieur avec un agitateur pour faire tomber les kystes qui auraient pu être entraînés, et centrifuger une dernière fois à 1.800 tours pendant 30 secondes.

8° Examiner le culot au microscope.

Depuis quelques années, nous employons aussi avec succès un procédé imité de celui de Bayer, qui donne des résultats sensiblement analogues.

1° Triturer une petite quantité de selles avec le liquide suivant :

Chlorure cuivrique	0 gr. 60
Acétate cuivrique	0 gr. 60
Formol à 40/100	30 cc.
Eau saturée de camphre.	150 cc.
Eau distillée	420 cc.
Acide acétique crist.	4 cc.

2° Tamiser.

3° Introduire le filtrat dans un tube à centrifuger et ajouter un peu d'éther. Emulsionner finement.

4° Centrifuger.

5° Examiner le culot au microscope.

Ces différents procédés donnent des résultats à peu près semblables, et c'est surtout une question de préférences personnelles qui peut guider dans leur choix.

Malheureusement, ils sont aussi passibles des mêmes reproches :

Lorsque les selles à examiner sont riches en cellulose et en amidon, le culot final est très volumineux et presque exclusivement composé de ces corps qui rendent la recherche très difficile et l'enrichissement illusoire.

Dans d'autres cas, la concentration ne se fait pas, c'est-à-dire que le culot de centrifugation n'est pas plus riche en kystes que la selle elle-même. Il en contient même parfois un moins grand nombre. (Ce sont des faits qu'on constate surtout avec les kystes de *Giardia*).

Pourtant, le plus souvent, l'enrichissement est effectif. Les kystes sont nombreux, mais, malheureusement, leur aspect s'est modifié. En contact avec les liquides acides, ils sont devenus granuleux, imprécis dans leurs détails, et de ce fait parfois méconnaissables.

Pour les identifier, il faut donc alors recourir à d'autres méthodes : *Examen direct*, si la selle est suffisamment riche, et dans le cas contraire, *méthode de Yorke-Adams*.

V. Méthode Yorke-Adams. — Une masse de fèces de la grosseur d'une noix, environ, est broyée dans un petit mortier avec un

peu d'eau. L'émulsion ainsi faite est entièrement agitée avec 500 cc. d'eau, puis versée dans un haut cylindre de verre et laissée au repos pendant 15 minutes environ. Ce temps est suffisant pour permettre aux particules fécales les plus grosses et les plus lourdes de tomber au fond du cylindre, et à une petite écume de matières très légères de s'accumuler à la surface. L'écume est ôtée et la masse du liquide est alors soutirée au moyen d'un siphon sans entraîner de dépôt. Le liquide qui a été décanté est placé de nouveau dans un autre cylindre haut et laissé au repos pendant la nuit, temps pendant lequel tous les kystes avec une certaine quantité de matériel fécal se sont déposés au fond du cylindre.

Le liquide surnageant est de nouveau soutiré au moyen d'un siphon et rejeté. Le précipité contenant les kystes est centrifugé et le culot de centrifugation est agité avec solution de sucre de canne dans l'eau (poids spécifique 1080 environ) et centrifugé à grande vitesse. Le résultat de ce procédé est la séparation de la grande majorité des kystes du matériel fécal restant, les fèces étant précipitées et les kystes flottant dans le liquide surnageant. Celui-ci est retiré, dilué dans à peu près 4 fois son volume d'eau et, ensuite, centrifugé à grande vitesse. Par ce procédé, un petit dépôt est obtenu; il contient un grand nombre de kystes et une quantité relativement faible de matières fécales. Le dépôt est alors lavé plusieurs fois avec de l'eau, pour le débarrasser de toutes traces de sucre et de la majorité des bactéries restantes.

Ce dernier lavage n'est utile que si on veut faire des cultures à partir de ce culot. Il est inutile si l'on veut se borner à un examen microscopique.

Cette méthode de YORKE-ADAMS est très précieuse, car elle permet d'enrichir tout en laissant les kystes intacts. Malheureusement, ses manipulations sont longues, minutieuses, et peu compatibles avec les nécessités imposées par des examens journaliers nombreux tels que ceux d'un laboratoire d'hôpital. Et, comme le fait remarquer BIDEGARAY, il faut attendre la sédimentation spontanée et, par conséquent, remettre la suite des

opérations au lendemain, ou se résoudre à centrifuger des masses énormes de liquide (500 cc. au moins par selle).

C'est pourquoi, dans la pratique, on ne pourra avoir recours qu'à la modification introduite par BIDEGARAY.

VI. Méthode de Yorke-Bidegaray. — 1° Triturer gros comme un pois de la selle dans de l'eau bouillie.

2° Laisser déposer pendant une minute.

3° Décanter le liquide surnageant dans un tube et centrifuger.

4° Rejeter le liquide surnageant, et agiter le culot avec une solution de sucre ordinaire (saccharose) à 20 %.

5° Centrifuger de nouveau.

6° Recueillir le liquide surnageant dans une éprouvette et le diluer de 4 fois son volume d'eau pour abaisser la densité.

7° Centrifuger cette dilution et examiner le culot au microscope.

Comme nous l'avons déjà dit, cette méthode au sucre a le grand avantage de ne pas altérer les kystes qui restent vivants (et peuvent donc servir ultérieurement pour des inoculations et des cultures) et conservent leur aspect caractéristique.

Mais elle présente cependant un inconvénient : elle enrichit moins abondamment que les autres procédés. Dans certains cas, même, elle n'enrichit pas du tout : et cela, probablement, parce que les kystes n'ont pas une densité absolument fixe. Il nous est arrivé, en cas d'échec, de retrouver les kystes dans le premier culot (le plus souvent des kystes d'*Entamæba coli*).

D'autre part, on peut voir des kystes de *Giardia* qui ne se sédimentent pas après dilution du liquide sucré. C'est pourquoi, nous préférons, pour cette dilution ajouter au moins 6 fois le volume d'eau. Donc au total, aucun de ces procédés d'enrichissement n'est infaillible. S'ils ont chacun leurs qualités propres, ils ont aussi leurs défauts. Et il ne faut jamais avoir une foi aveugle en eux : positifs ou négatifs, ils ne doivent jamais dispenser d'un examen direct approfondi.

Au point de vue pratique, la recherche des kystes de protozoaires comprendra donc obligatoirement plusieurs temps :

1° *Examen direct* approfondi;

2° Quelque soit le résultat de l'examen direct, *enrichissement* par un procédé autre que le YORKE-BIDEGARAY. Si le résultat est négatif, inutile d'aller plus loin;

3° Si, au contraire, il est positif, et, si comme trop souvent, les kystes sont abîmés, recourir au procédé de YORKE-BIDEGARAY, comme moyen d'identification.

Il est facile d'imaginer un dispositif permettant de mener de front les deux dernières opérations, et, ainsi, de gagner du temps. Il suffit, pour cela, d'effectuer les deux enrichissements dans deux tubes équilibrés différents, et de faire coïncider leurs différents temps.

DESCRIPTION DES KYSTES

Les méthodes de choix pour l'étude des kystes sont les colorations par le Lugol ou mieux par le mélange de Lugol et de Thionine. Sur l'extrémité d'une lame porte-objet propre, on met une goutte du culot de centrifugation, une goutte de Lugol et une goutte de Thionine. Avec une lamelle, on mélange intimement le tout. Puis, par un mouvement de translation, on amène le mélange vers le centre de la lame, la lamelle reposant seulement par un bord. Il suffit, alors, de laisser tomber la lamelle pour avoir une préparation d'épaisseur décroissante (les plus grosses particules telles que les cellules pierreuses étant toutes restées d'un côté)

Chilomastix mesnili. — Kystes de petite taille (7,5 à 8,5 μ).
Piriformes.

On voit à l'intérieur un noyau à peu près central et des traces des flagelles.

Giardia intestinalis. — Leur taille moyenne est de

$$10-13 \times 8-9 \mu.$$

Forme ovoïde. On voit facilement, à l'intérieur, une sorte de cloison médiane oblique ou en S formée par le faisceau des flagelles tordues ensemble. On aperçoit aussi 2 ou 4 noyaux.

Ces kystes sont, parfois, en nombre considérable, et certains se colorent en bleu par l'iode (kystes bleus). Il s'agit probablement de kystes morts (J.-C. ROUX, R. GÖIFFON, R. DESCHIENS, J. SAUTET).

Dans les culots d'enrichissements autres que le Yorke-Bidegaray les kystes de *Giardia* sont généralement plus petits qu'à l'examen direct, et leur paroi est souvent démesurément gonflée.

Entamoeba coli. — Kystes ronds de taille comprise entre 11 et 22 μ .

Noyaux toujours très visibles (de 4 à 8).

Cristalloïdes rares et en bâtonnets enchevêtrés.

Amibes du type dysenterique. — Kystes ronds de taille comprise entre 5 et 15 μ , et même parfois 17 et 18 μ (rare).

Noyaux moins visibles que dans la précédente, ne dépassant jamais le nombre de 4.

Cristalloïdes parfois, épais, trapus, à extrémité arrondies.

Souvent, vacuole iodophile.

Endolimax nana. — Taille comprise entre 7 et 10 μ .

Forme irrégulière : ronde, ovale, en pomme de terre.

Noyaux peu visibles (souvent invisibles) sur les préparations colorées par le Lugol.

En présence de petits kystes semblant répondre à la description ci-dessus, il ne faut jamais se hâter de conclure à kystes d'*Endolimax nana* sans avoir pratiqué un examen très soigneux avec un grossissement suffisant. Car de petits kystes d'amibes du type dysenterique '*hartmanni*' peuvent très bien être pris pour des kystes d'*Endolimax nana*, à un examen superficiel, surtout si la quantité de Lugol est insuffisante.

Pseudolimax butschlii. — Taille comprise entre 10 et 11 μ .

Ronds ou piriformes.

1 noyau invisible sur les préparations colorées au Lugol.

Grosse vacuole glycogénique que l'iode colore en brun.

De l'examen des caractères des kystes sommairement rappelés ci-dessus, il résulte que si pour certains d'entre eux l'identification est aisée, il peut se présenter, parfois, des causes d'hésitation.

Ainsi, dans une selle riche en kystes d'*Entamæba coli*, on peut trouver des kystes à 4 noyaux, de taille limite, et, malgré toutes les descriptions, il n'est pas toujours facile de déterminer s'il s'agit d'un grand kyste dysentérique ou d'un petit kyste de coli.

En résumé, la recherche des kystes n'est pas toujours une opération aussi facile qu'on a l'habitude de le dire.

En plus des causes d'erreur tenant aux lois de l'évolution des protozoaires, on peut se heurter à des difficultés techniques qui font que, parfois, on reste sur une impression d'incertitude qui vous incite à chercher par d'autres moyens une solution moins douteuse.

Enfin, en se bornant à la recherche des kystes, on oublie que les protozoaires tels que les *Trichomonas intestinalis* et les *Dientamæba fragilis* ne se trouvent qu'à l'état végétatif.

RECHERCHE DES FORMES VÉGÉTATIVES

On a proposé de rechercher les formes végétatives dans le mucus directement recueilli au rectoscope. Malgré les apparences ce procédé donne des déboires. On arrive difficilement à bien effectuer le prélèvement. Si l'on veut avoir des chances d'aboutir, il faut rejeter complètement l'usage des tampons de coton qui absorbent les mucosités, et ne se servir que de pipettes munies de tétines permettant l'aspiration. Mais, les malades ayant généralement été préparés à la rectoscopie par l'administration de lavements évacuateurs, on se trouve presque toujours dans de mauvaises conditions d'examen.

On peut aussi avoir à rechercher les parasites dans le liquide duodénal retiré par sondage, principalement dans les cas de giardose.

Mais ce sera presque toujours des selles qu'on aura à examiner. Et alors, la première condition devra être que ces selles soient suffisamment fluides pour que les formes végétatives puissent y vivre.

Si le malade est un diarrhéique, le cas est simple. S'il ne l'est pas, il faut artificiellement le rendre tel.

MODES D'OBTENTION DE LA DIARRHÉE

On a préconisé différents procédés :

L'injection intraveineuse de cyanure de mercure constitue, selon nous, un procédé qu'on ne doit pas employer sans prudence. Car, outre qu'il peut être la cause d'hémorragies intestinales, c'est, à petites doses, un médicament réactivant la syphilis. Et, à ce titre, il nous semble dangereux, car on risque de réveiller une syphilis latente chez un malade qui peut n'être pas suivi à ce sujet.

On a conseillé aussi l'usage du lavement iodé. Ce procédé donne, peut-être, d'excellents résultats, mais il ne peut certainement pas être employé couramment. Car nombre de malades accepteront de prendre des médicaments par la bouche, mais refuseront tous lavements en dehors de nécessités thérapeutiques bien précises. Or, la question n'est pas de trouver le meilleur moyen théorique, mais, bien au contraire, le moyen pratique qui pourra être largement employé, aussi bien à l'hôpital qu'en ville. Et, à ce titre, c'est la purgation qui est le plus facilement acceptée.

On peut utiliser la bile suivant le procédé de LE NOIR et Mathieu DE FOSSEY. Mais il est encore plus simple de se servir du sulfate de soude, soit à la dose unique de 30 à 40 grammes, soit à doses fractionnées de 5 à 10 grammes par jour pendant trois à quatre jours de suite. Cette dernière manière semble d'ailleurs préférable, car, outre qu'elle permet, au bout de trois à quatre jours d'obtenir des selles de consistance voulue, par l'irritation entretenue et l'exsudation colique qui en résulte, il semble qu'on arrive mieux à vider les culs-de-sac glandulaires où peuvent végéter des protozoaires difficiles à expulser.

Mais le sulfate de soude n'est pas le seul produit à conseiller. N'importe quel purgatif peut donner des résultats aussi bons. Et, si dans la majorité des cas, le sel de soude est accepté, il arrive que certains malades affirment ne pouvoir en prendre sans éprou-

ver de violentes coliques. Dans ce cas, le mieux est, semble-t-il, de laisser le malade libre de son choix, pourvu que le produit employé ne contienne ni huile de paraffine, ni poudres insolubles (bismuth, kaolin, charbon, etc.). Ainsi certains se trouvent mieux du calomel, d'autres de la poudre de réglisse composée, etc.

Les produits à base d'agar-agar ou autres mucilages ne gênent pas l'examen.

CHOIX DE LA SELLE ET CONSERVATION

L'ingestion de sulfate de soude provoque des selles de consistance variable avec le temps et les sujets, et aussi avec la dose de purgatif employé. Chez les parasités, ces différentes selles sont inégalement riches en formes végétatives. L'expérience montre que dans les selles molles on trouve surtout des kystes, les formes végétatives ne se montrant réellement en nombre que dans les selles suffisamment pâteuses. Toutefois, on ne doit pas atteindre l'état liquide, car, du fait de la dilution, les parasites sont généralement moins nombreux.

Il y a donc une consistance optima qu'il faut savoir apprécier. Et à ce sujet, l'usage prolongé de petites doses de sulfate de soude (5 à 10 grammes par jour) offre plus de latitude dans le choix de l'échantillon à examiner que la dose massive qui, souvent, donne lieu à une débâcle liquide suivie, sans transition, d'une période de constipation.

La consistance pâteuse est donc celle qui, généralement, offre le plus de chances de réussite. Mais il y a parfois des exceptions. Et voici deux exemples montrant que chez certains individus, il faut arriver à la consistance liquide pour observer des formes végétatives.

M. C..., 11 juillet, après trois jours de sulfate de soude à raison de 5 grammes par jour : *selles liquides*;

Examen direct : amibes non hématophages, du type dysentérique. *Entamoeba coli*.

Enrichissements : négatifs.

15 juillet, sans purgation : *selles molles*.

Examen direct : négatif.

Enrichissements : négatifs.

19 juillet, après 15 grammes de sulfate de soude pris en une seule fois : *selles molles*.

Examen direct négatif.

Enrichissements : négatifs.

20 juillet, après 15 grammes de sulfate de soude (deuxième jour) : *selles liquides*.

Examen direct : amibes non hématophages, du type dysentérique.

Enrichissements : négatifs.

M^{lle} V..., 15 novembre 1930, sans purgation : *selles moulées*.

Examen direct : négatif.

Enrichissements : assez nombreux kystes d'*Endolimax nana*.

Quelques œufs de Trichocéphales.

16 novembre 1930, après purgation : *selles molles*.

Examen direct : négatif.

Enrichissements : assez nombreux kystes d'*Endolimax nana*.

Quelques œufs de Trichocéphales.

18 novembre 1930, après purgation : *selles liquides*.

Examen direct : nombreuses *Endolimax nana* et *Dientamoeba fragilis*.

Enrichissements : Quelques œufs de trichocéphales.

Il en résulte que, après purgation, un seul examen négatif est insuffisant pour pouvoir éliminer le parasitisme. Et, comme pour les kystes, la répétition des recherches est un des facteurs de succès. Mais à un degré beaucoup moindre, car, jusqu'à présent, nous n'avons encore jamais rencontré de malades qui, après deux examens négatifs dans des conditions favorables (une selle pâteuse

et une selle liquide) aient, par la suite, éliminé des protozoaires.

Et ceci se conçoit facilement, car pour les formes végétatives, il n'y a pas de périodes négatives. Elles existent toujours. Et, pour les mettre en évidence, il suffit d'amener la selle à la consistance optima.

L'examen de selles après purgation est donc un procédé de choix, mais qui n'acquiert toute sa valeur que si on a eu soin de faire deux examens : l'un sur une selle pâteuse, l'autre sur une selle liquide.

Une fois en possession de la selle, on dit généralement que l'examen doit être effectué immédiatement, toutes affaires cessantes. C'est là une exagération, car on a plusieurs heures de latitude, à condition de prendre quelques précautions.

Les protozoaires les plus fragiles sont les amibes. Et on a coutume d'accuser le froid d'être cause de leur disparition plus ou moins rapide. Or, comme l'a montré T. SIMIC, les amibes résistent beaucoup mieux à l'abaissement de la température qu'on ne le croit d'habitude. Ainsi, il y a quelques années, nous avons pu transporter, sans précautions spéciales, des selles liquides émises le matin, de l'Hôpital des Enfants-Malades à l'Hôpital Saint-Antoine, puis les placer à l'étuve jusqu'à 5 heures de l'après-midi, et, de là, les emporter à la Faculté de Médecine où des amibes ont été encore constatées parfaitement mobiles dix heures, environ, après l'émission. Cette résistance au froid augmente d'ailleurs au cours des cultures, et, sous cet état, nous avons pu personnellement conserver des amibes vivantes pendant quarante-huit heures à la température du laboratoire.

Pourtant, en pratique, on constate que dans certaines selles, les amibes disparaissent beaucoup plus vite que dans d'autres, les survies les plus longues s'observant dans les selles liquides. Et ceci s'explique par le fait que le grand ennemi des protozoaires c'est la *dessiccation*.

Il peut donc être moins dangereux pour la recherche des protozoaires de laisser des selles à la température du laboratoire

que de risquer de les dessécher par un séjour intempestif à l'étuve.

La seule précaution à prendre, le plus tôt possible, est d'éviter la dessiccation. Comme l'indique T. SIMIC, on obtient facilement ce résultat en diluant les selles dans du liquide de Ringer ou, plus simplement, dans du sérum physiologique ordinaire. On peut ensuite les conserver trois ou quatre heures à l'étuve sans que l'examen en souffre.

Bien entendu, il est toujours préférable d'avoir des selles émises au lieu même de l'examen. Mais, si le malade est dans l'impossibilité de se déplacer, il n'est nullement impossible de transporter les matières du domicile au laboratoire dans un récipient bouché et bien emballé pour éviter, dans la mesure du possible, à la fois le refroidissement et la dessiccation.

EXAMEN DES SELLES FRAICHES

Nous avons vu que le froid ne tue pas rapidement les protozoaires. Mais il diminue leur mobilité. Le mouvement étant un de leurs caractères essentiels, il est donc indispensable de faire l'examen à chaud (aux environs de 30 degrés à 37 degrés). A cet effet, il existe plusieurs modèles de platines chauffantes permettant de remplir ces conditions, mais, de tous les appareils employés, la chambre de N. Foot est certainement le plus pratique. C'est une caisse en bois et en verre chauffée électriquement par des ampoules à incandescence, dans laquelle le microscope entre en entier.

Au moyen de cet instrument, on fera donc l'examen simplement entre lame et lamelle.

S'il peut être concluant pour certaines formes parasitaires, il n'est, la plupart du temps, qu'une première étape dans la détermination des espèces qui restent douteuses et demandent une identification plus précise.

Voici les principaux caractères des parasites vus à l'état frais.

Flagellés. — On perçoit très facilement les flagellés qui sont parfois en nombre considérable. Ils sont animés de mouvements très vifs rendant difficile l'observation de leurs caractères. De sorte que leur identification est le plus souvent impossible sous cet état.

Trichomonas intestinalis. — Le meilleur caractère distinctif de ce flagellé est la présence d'une membrane ondulante. Malheureusement, il est souvent difficile de la voir à l'état frais.

Chilomastix mesnili. — Il peut se reconnaître à sa forme effilée et à son mouvement ondulatoire.

Giardia intestinalis. — C'est le flagellé le plus facilement reconnaissable. Car, au cours de ses mouvements incessants, il arrive toujours à se présenter de profil, par instants. Et, dans cette position, il a une forme en *croissant de lune* caractéristique. Aucun autre flagellé ne présente cet aspect.

Amibes. — On voit facilement les amibes sous formes de corps réfringents plus ou moins mobiles. Mais il ne suffit pas de constater leur présence, il faut encore voir à quel genre et à quelle espèce elles appartiennent.

Parmi elles, une est particulièrement reconnaissable, c'est la grande forme hématophage (forme histolytique) de l'*Entamoeba dysenteria*. Son mouvement est caractéristique. Son ectoplasme clair et son endoplasme bourré de globules rouges imposent la certitude. Pourtant il ne faut pas confondre avec des hématies certaines vacuoles protoplasmiques qui peuvent leur ressembler comme forme, mais jamais comme couleur. Les hématies contenues dans le corps de l'amibe peuvent être de tailles inégales suivant les degrés de digestion où elles sont arrivées, mais elles sont toujours colorées en jaune.

Cette hématophagie si caractéristique est, d'ailleurs, le seul signe de certitude que nous possédions de la nature dysentérique de l'amibe.

Mais lorsqu'aucune amibe n'est hématophage, la question est plus difficile.

Il faut alors considérer deux catégories distinctes d'amibes :

1° Les grandes formes, au-dessus de 12 à 13 μ ;

2° Les petites formes, au-dessous de 12 μ .

1° Les grandes formes ne peuvent être que des *Entamæba coli* ou des amibes du *type dysenterique* (dysenteriaë et dispar). Et, pour les distinguer, il faut envisager plusieurs groupes de caractères.

A. Mobilité.

B. Structure du cytoplasme.

C. Le noyau.

et, d'une manière schématique, on peut résumer ces caractères de la manière suivante :

Amibes du type dysenterique (dysenteriaë, dispar). — Ce sont des amibes généralement très mobiles. Et leur mobilité est assez particulière. Elle est caractérisée par la grande rapidité avec laquelle se forment les pseudopodes.

Lorsque l'amibe est au repos, elle est ronde. Mais elle entre en mouvement subitement, sans que rien ne l'ait fait prévoir. Et, sans transition, il s'est formé une hernie qui est le pseudopode. Ce pseudopode reste hyalin, contrastant ainsi avec la masse granuleuse du corps amibien, tout le temps qui précède la mise en mouvement du protoplasma qui semble aspiré dans la direction de la hernie. Si l'on arrive à bien observer ces différentes phases du mouvement amibien, on possède de fortes présomptions en faveur de la nature dysenterique de l'amibe.

Le noyau est généralement invisible ou peu visible à frais.

Entamæba coli. — Généralement, l'*Entamæba coli* est moins mobile que les précédentes; elle est plus paresseuse, se déforme lentement.

Le noyau est le plus souvent très visible.

Il semble donc, à première vue, que ces deux groupes d'amibes *Entamæba coli* et amibes du *type dysenterique* aient des caractères suffisamment nets pour qu'on puisse les distinguer à coup sûr. Et pourtant, en réalité, il arrive souvent qu'on soit embar-

rassé. Car les descriptions données ci-dessus correspondent plutôt à des types schématiques qu'à des types réels.

On peut trouver des *Entamœba coli* aussi mobiles que les *Entamœba dysenteria*, émettant des pseudopodes semblant aussi tranchés. D'autre part, certaines amibes du type dysentérique sont peu actives et se déplacent par étirement, à la façon des limaces, sans former de véritables pseudopodes.

Les caractères de visibilité du noyau sont tout aussi variables : on peut trouver des amibes authentiquement dysentériques, possédant un noyau très visible, même dans les formes hématophages, où on le voit rouler entre les hématies, au cours du déplacement.

2° Pour les petites formes, la question est encore plus délicate, car il peut s'agir, soit d'amibes du type dysentérique, soit d'*Endolimax nana*, soit de *Pseudolimax butschlii*, soit de *Dientamœba fragilis*.

Amibes du type dysentérique. — On dit généralement que les formes minuta de l'*Entamœba dysenteria* et les *Entamœba dispar* sont peu mobiles et ne possèdent pas d'ectoplasme différencié. Pourtant on observe de petites amibes présentant des caractères de mobilité absolument semblables à ceux des grandes formes.

On peut voir ou ne pas voir le noyau.

Quant aux *Endolimax*, *Pseudolimax* et *Dientamœba*, il est plus prudent de ne pas essayer de conclure par l'examen frais. Car, si on peut arriver à se faire une impression, on s'aperçoit, au cours des identifications ultérieures, que la plupart du temps elle était fausse.

Parmi ces dernières petites amibes qui peuvent être douées d'une mobilité très variable, les *Pseudolimax*, en particulier, sont une cause d'erreur. Elles sont parfois très vives, et la couronne de corpuscules achromatiques de leur noyau peut en imposer faussement pour une croûte de chromatine périphérique et, dans ce cas, elles peuvent passer pour des entamibes.

Donc, il est pratiquement impossible, dans la plupart des cas,

en dehors de l'amibe hématophage, d'identifier l'espèce par le seul examen à la chambre chaude.

Ce premier examen sert à constater la présence ou l'absence des parasites. Quant à leur identification, elles demandent d'autres méthodes.

IDENTIFICATION DES PROTOZOAIRES constatés à l'examen frais.

Pour identifier les protozoaires on est obligé d'avoir recours à l'examen des frottis humides fixés et colorés.

Préparation des frottis. — Pour avoir de bons frottis, il faut que les selles remplissent des conditions optima de consistance. Elles devront être assez molles pour que l'étalement se fasse facilement sans écrasement, et pas trop liquides pour que, pendant la fixation, elles ne se décollent pas de la lame.

Si les selles sont trop fermes, il faut les diluer dans un peu d'eau. Si elles sont trop liquides, il faut les mélanger avec un peu de selles plus fermes que le malade aura recueillies précédemment et apportées avec lui.

Pour faire le frottis, on met une petite quantité de matières à l'extrémité d'une lame et, avec une lamelle, on étale sans écraser, par des mouvements d'oscillations latérales assez rapprochés. Le frottis doit être suffisamment mince pour que, ultérieurement, l'examen microscopique puisse se faire sans difficultés. Pourtant, il peut être commode d'avoir, sur la même lame, des parties d'épaisseurs différentes.

Fixation. — On a le choix entre plusieurs fixateurs : acide osmique, sublimé acétique, etc. Mais c'est le liquide de Bouin qui est d'un usage le plus courant. Il se prépare facilement, et sa conservation est indéfinie. Voici sa formule :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique . . .	30 volumes.
Formol à 40/100	40 —
Acide acétique	2 —

Pour faire la fixation, on met du liquide de Bouin dans une ou plusieurs boîtes de Laveran, et, dès l'étalement des selles terminé, on laisse tomber la lame (étalement en dessous) sans brusquerie et bien à plat dans le liquide. On évite ainsi les décollements toujours possibles. On laisse en contact 3 ou 4 heures.

Au bout de ce temps, on lave les lames à l'alcool à 90°, et on les laisse immergées dans ce même alcool pendant 10 à 12 heures.

Si on a pu faire les frottis dans la matinée, on les met dans l'alcool le soir pour les y laisser jusqu'au lendemain matin.

D'ailleurs, il n'y a aucun inconvénient à prolonger ce séjour dans l'alcool. C'est même le seul procédé permettant de conserver des préparations en attendant d'avoir le temps de les colorer.

Coloration. — Au sortir du bain d'alcool, les lames conservent encore une légère teinte jaune due à l'acide picrique. Il faut s'en débarrasser avant de commencer les colorations. Pour cela, il suffit d'un lavage à l'eau courante de quelques minutes. L'emploi du carbonate de lithine est parfaitement inutile.

Une fois le lavage à l'eau terminé, on procède à la coloration.

Le meilleur procédé de coloration, celui qui donne le plus de finesse dans les détails aussi bien pour les protozoaires que pour les éléments histologiques, c'est le procédé à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain.

On peut, sans inconvénient, recourir à une technique rapide, à condition d'opérer à chaud (dans des tubes de Borrel placés au bain-marie à 60-70°).

Dans ces conditions, nous obtenons de très bons résultats en fixant à 1 h. 1/2 le temps de séjour dans les différents bains.

1° Mordencage. — Les lames lavées sont plongées dans une solution d'alun de fer à 3 % et laissées en contact 1 h. 1/2 environ.

Pour préparer cette solution, on doit se procurer de beaux cristaux violets d'alun de fer et rejeter ceux qui sont devenus opaques et blanc-jaunâtres.

La solution se fait très facilement à froid en écrasant les cristaux au mortier.

2° *Coloration*. — Les lames lavées à l'eau sont immergées dans une solution d'héματοxyline à 1 % préparée en diluant au 1/10^e dans l'eau une solution alcoolique d'héματοxyline à 10 %.

Pour un tube Borrel, on prend :

Solution dans l'alcool absolu d'héματοxyline à 10 %.	6 cc.
Eau distillée.	q. s. pour 60 cc.

Durée de contact : 1 h. 1/2 environ à 60-70°.

3° *Différenciation*. — Au sortir du bain d'héματοxyline, la lame est lavée à l'eau, puis immergée dans une solution d'alun de fer à 1,5 % (c'est-à-dire la solution servant au mordencage diluée de moitié). Pour renouveler les surfaces de contact, on agite la lame au sein du liquide. Peu à peu, on voit la coloration noire du frottis s'éclaircir. Il s'agit d'arrêter la différenciation au moment où, les protoplasma étant décolorés, la chromatine des noyaux, restée noire, se détache nettement sur le fond de la préparation. Pour arriver à ce résultat, il faut suivre au microscope les progrès de l'opération. A cet effet, on retire la lame du bain d'alun de fer, on la lave à l'eau et on l'examine au microscope, à un grossissement moyen (objectif 6 par exemple). On peut recouvrir la préparation mouillée d'une lamelle pour faciliter l'examen (il suffira ensuite de plonger la lame dans un verre d'eau pour que la lamelle se détache d'elle-même, sans dégâts pour le frottis). Mais, avec un peu d'habitude, on se passe très bien de lamelle.

Si les détails sont insuffisamment différenciés, on remet à l'alun de fer à 1,5 % et on recommence ainsi à plusieurs reprises jusqu'à obtention du résultat désiré.

Mais les protozoaires ne sont pas toujours suffisamment nombreux pour qu'on puisse différencier directement sur eux. Il faut alors saisir le terme de l'opération uniquement d'après la teinte générale des éléments fécaux. C'est une question de pratique à laquelle on arrive aisément avec un peu d'exercice.

Dès la différenciation terminée, on lave à l'eau courante pendant 5 à 10 minutes, puis on déshydrate par l'alcool absolu, le xylol, et on monte dans le baume du Canada.

Le point important est de ne laisser sécher à aucun moment les préparations depuis le moment de l'étalement jusqu'à l'inclusion dans le baume.

Lorsqu'on fait des colorations sur coupes, la méthode ci-dessus est applicable, mais on a alors avantage à différencier au début dans une solution d'alun de fer à 3 % pour terminer ensuite par la solution à 1,5 %.

Sur les frottis ainsi colorés, la chromatine et les hématies sont colorées en noir (ainsi que certaines inclusions appelées pour cette raison *sidérophiles*). Mais, parfois, pour lever toutes causes de doute, il sera utile de colorer les globules rouges d'une manière plus distincte. Dans ce cas, la méthode de Mann qui colore en rouge les hématies et en bleu le reste de la préparation pourra être d'un grand secours.

Méthode de Mann. — Après fixation et lavage, les lames sont immergées pendant 3 ou 4 heures dans le mélange suivant :

Solution aqueuse de bleu de méthyle à 1 % . . .	14 cc.
Solution aqueuse saturée d'éosine	18 cc.
Eau distillée	40 cc.

Au sortir de ce bain, on lave les lames à l'alcool à 70°, puis on différencie avec une solution très diluée d'orangé G dans l'alcool à 70°. La lame doit devenir franchement bleue.

Ensuite on déshydrate, et on monte au baume.

Ces méthodes de coloration sont trop souvent considérées comme des méthodes d'exception devant être réservées aux seuls laboratoires de recherches. Nous croyons, au contraire, qu'elles devraient être d'un usage aussi courant, en parasitologie, que la méthode de Gram, en bactériologie. Car, en dehors d'elles, à part quelques cas particuliers, il est pratiquement impossible d'identifier des formes végétatives de protozoaires. Et si, par la recherche des kystes, on risque de laisser passer inaperçus des cas d'amibose, il ne faut pas tomber dans le travers de prendre

pour des amibes dysentériques toutes les amibes qu'on voit bouger sous le microscope.

Au surplus, les méthodes de coloration des protozoaires ne sont pas tellement longues qu'elles ne puissent être exécutées partout. En histologie, les méthodes sont autrement compliquées, sans que, pour cela, personne ne songe à les condamner. Sans aucune précipitation, on peut donner le résultat d'une identification sur lames colorées, dans les 24 heures. Et même, en cas de nécessité, les temps peuvent être considérablement raccourcis. Il nous est arrivé assez souvent de donner une réponse dans la journée.

Quant à la perte de temps, elle est largement compensée par l'intérêt des résultats.

Voyons, maintenant, les principaux caractères des protozoaires après coloration par la méthode à l'hématoxyline ferrique.

Flagellés. — *Chilomastix mesnili*. — Les *Chilomastix* conservent assez souvent leur forme typique dans les frottis. Mais parfois, par suite de l'étalement, ou parce qu'au moment de la fixation il était en contraction, le corps peut se présenter sous une forme ronde. Mais le noyau très visible n'est jamais central, et se trouve toujours près d'un bord. Il est antérieur. De plus, on arrive généralement à voir trois flagelles antérieurs.

Trichomonas intestinalis. — Les *Trichomonas* sur, les frottis, sont difficiles à colorer et à observer. Alors qu'à frais ils sont piriformes, après fixation ils sont le plus souvent arrondis. Et lorsque les préparations sont réussies, on arrive à voir un gros noyau, et, entre lui et la partie antérieure, un bépharoplaste volumineux sur lequel s'insèrent les flagelles antérieurs et la membrane ondulante.

Le nombre des flagelles antérieurs est variable : généralement de 3, mais on peut en trouver 4 ou 5.

Giardia intestinalis. — Les *Giardia* se reconnaissent très facilement sur les préparations colorées. Ce sont des organismes piriformes longs de 10 à 20 μ et larges de 6 à 10 μ .

Il existe deux flagelles à la partie postérieure, et 6 autour de

la dépression réniforme ventrale. Mais ces détails ne sont pas toujours très visibles.

Cependant, les *Giardia* ont un aspect très caractéristique (cerf-volant, tête de mort) qui ne permet pas de les confondre avec autre chose.

D'ailleurs, les formes végétatives sont relativement rares, et, le plus souvent, c'est aux kystes qu'on a affaire.

Amibes. — La classification des amibes est basée sur la structure de leur noyau. C'est dire que c'est lui qu'on doit avant tout observer.

Le genre *Entamoeba* est caractérisé par un noyau pourvu d'une couche de chromatine périphérique et d'un karyosome de petite taille central ou excentrique. Schématiquement, il a donc la forme d'un cercle noir contenant un point noir.

Le genre *Endolimax* est caractérisé par un noyau dépourvu de chromatine périphérique, mais possédant un volumineux karyosome excentrique (dit-on généralement, mais qui est souvent central). Sur les frottis colorés, on aperçoit une tache noire généralement ronde au milieu d'une vacuole plus claire que le protoplasme environnant.

Le genre *Pseudolimax* possède comme le précédent un noyau dépourvu de chromatine périphérique. Quant au karyosome volumineux et central, il est sphérique et entouré d'une couche de granules achromatique, c'est-à-dire ne se colorant pas. Il s'en suit que, sur les frottis colorés, il est pratiquement impossible de séparer les formes végétatives de *Pseudolimax* de celles d'*Endolimax*. La distinction ne pourra se faire que par la notion acquise à l'examen frais de l'existence d'une couronne de granules réfringents.

Dans le genre *Dientamoeba*, on trouve le plus souvent deux noyaux, bien que les formes à un seul noyau ne soient pas une exception. Mais toujours, qu'il soit unique ou non, le noyau est caractéristique. La chromatine est rassemblée au centre sous

forme de grains donnant un aspect émietté. Il n'y a pas de chromatine périphérique.

Une fois la détermination du genre effectuée, il reste à préciser l'espèce.

Pour les trois derniers la question est résolue puisqu'on ne connaît qu'une espèce dans chaque genre : *Endolimax nana*, *Pseudolimax butschlii*, *Dientamœba fragilis*.

Mais pour les *Entamœba*, la question est plus difficile, bien qu'elle se résume à ceci : distinguer les *Entamœba coli* des amibes du type dysentérique.

On a décrit un certain nombre de caractères classiques, qui, à première vue, semblent suffisamment nets pour qu'il n'y ait pas de confusions possibles. Mais, en pratique, quand on examine des lames colorées, on s'aperçoit que ces descriptions sont souvent trop schématiques. Les amibes typiques sont rares. Le plus souvent on a affaire à des parasites qui, par tel détail, rappellent les *Entamœba coli*, et, par tel autre, se rapprochent des amibes du type dysentérique. Or dans le cas qui nous préoccupe, il ne s'agit pas de rechercher, dans un but pédagogique, les formes classiques et de négliger, systématiquement, les formes douteuses. Ce sont ces dernières, au contraire, qui doivent attirer notre attention. Et tous nos efforts doivent porter sur leur identification.

Dans ce but, nous nous sommes astreints à examiner le plus grand nombre possible d'amibes de provenances différentes, espérant que parmi les caractères connus, il s'en trouverait certains dont la fixité serait plus évidente.

Nous avons ainsi étudié, d'une part, des *Entamœba coli*, d'autre part, des amibes hématophages provenant de sujets dysentérique et des amibes obtenues en purgeant des porteurs de kystes à quatre noyaux.

I. Amibes du type dysentérique. — Formes hématophages. — C'est la forme amibienne la plus caractéristique. Et, par conséquent, il est logique de commencer par elle l'étude morphologique qui nous intéresse.

Il y a deux parties distinctes à examiner : le Cytoplasme et le noyau.

Cytoplasme. — En dehors des hématies incluses et qui sont garantes de l'authenticité de l'amibe, nous voyons que le cytoplasme est *granuleux*. Et les granulations ne sont pas constituées par une fine poussière, mais, au contraire, sont nettes et dissociables. Pour fixer les idées, on peut dire qu'elles sont comparables comme intensité et grosseur aux granulations qu'on observe dans les leucocytes polynucléaires neutrophiles après coloration par le Ciemsa, par exemple.

Dans la plupart de ces amibes, on remarque, de plus, que cette zone granuleuse est entourée d'une zone nettement plus claire et sans granulations. Ce qui revient à dire qu'on délimite avec évidence un ectoplasme hyalin vide d'inclusions et un endoplasme granuleux contenant les hématies phagocytées et le noyau. Mais de ces deux parties l'une peut manquer, l'ectoplasme ; car il se voit surtout à l'occasion du mouvement, et la fixation a pu être effectuée au moment où l'amibe était immobile.

Donc au point de vue cytoplasmique, en dehors de la présence d'hématies, l'*Entamœba dysenteriae hématophage* se caractérise par un aspect granuleux spécial,

Noyau. — Dans le noyau, deux parties sont à considérer : 1° la chromatine périphérique, 2° le karyosome.

Chromatine périphérique. — On constate qu'elle a, généralement, la forme d'un cercle délicat. Mais, parfois, on peut observer une condensation chromatique périphérique intense donnant un aspect beaucoup plus massif au noyau.

L'aspect de la chromatine périphérique est donc variable,

Karyosome. — Il est constitué par un point, le plus généralement central.

L'*Entamœba dysenteriae hématophage* possède donc deux caractères fixes, semble-t-il :

A, Cytoplasme granuleux.

B. Karyosome punctiforme et le plus souvent central.

Amibes non hématophages obtenues en purgeant des porteurs

de kystes à quatre noyaux. — Là encore, nous aurons à étudier le cytoplasme et le noyau, Voici les détails qu'on observe :

Cytoplasme. — Celui-ci peut présenter des aspects assez variables :

a) Il peut être granuleux comme celui des formes précédentes.

b) Il peut présenter deux zones concentriques (mais assez rarement).

c) Il peut être vacuolaire et contenir des microbes.

Noyau. — La *chromatine périphérique* est le plus souvent de structure délicate.

Le *karyosome* est ponctiforme et généralement central.

Exceptionnellement, nous avons constaté des amibes où le karyosome était représenté par un petit cercle très fin situé au centre du noyau.

II. *Entamœba coli.* — *Cytoplasme.* — Il est vacuolaire. On ne voit jamais un ectoplasme différencié circonscrire complètement la partie centrale vacuolaire. Si la fixation a surpris une *Entamœba coli* en mouvement, on peut voir parfois un ou plusieurs pseudopodes d'une structure différente du reste du cytoplasma. Mais au lieu d'être clair comme dans l'amibe hémato-phage, ce pseudopode est granuleux. Ce dernier caractère n'est, d'ailleurs, pas particulier à l'*Entamœba coli*; on peut l'observer dans les formes prékystiques d'amibes du type dysentérique.

En outre, le cytoplasme des *Entamœba coli* contient le plus souvent des microorganismes (microbes, protozoaires, levures, etc.).

Noyau. — La *chromatine périphérique* est plus ou moins épaisse.

Le *Karyosome*, généralement, ne coïncide pas avec le centre du noyau; on dit qu'il est excentrique. Mais on peut parfaitement trouver des *Entamœba coli* à karyosome central. Et cela se conçoit facilement, car, le noyau étant une sphère, un karyosome excentrique paraîtra central chaque fois que le diamètre passant par lui coïncidera avec l'axe du microscope.

Donc la situation du karyosome constitue un caractère inconstant.

Mais la forme de ce karyosome nous semble instructive. Ce n'est pas un point mais une tache de forme variable (ronde, ovale, en virgule, etc.) qui peut être accompagnée, d'ailleurs, de quelques grains chromatiques disséminés autour de lui.

En résumé, l'aspect granuleux spécial du cytoplasme est un bon signe en faveur du *type dysentérique*. Mais il peut manquer.

Le caractère qui nous paraît le plus constant réside dans la forme du karyosome. *Central ou non, il a, le plus souvent, la forme d'un point dans les amibes du type dysentérique, et la forme d'une tache dans les Entamœba coli.*

On pourra être étonné, parfois, de trouver des amibes présentant tous les caractères des amibes du *type dysentérique*, et cependant bourrées de microbes comme s'il s'agissait d'*Entamœba coli*. Or, il ne faut pas oublier que les amibes en question ont pu mourir avant la fixation, auquel cas il y a eu infection *post mortem* par les microbes environnants.

CAUSES D'ERREUR

Les frottis fixés et colorés donnent des renseignements des plus précieux, mais à la condition de les interpréter correctement. Et il ne faut pas oublier que cette interprétation exige une certaine habitude qui s'acquiert à la longue. Tel détail qu'un débutant n'arrive pas à voir devient évident pour l'observateur doté d'un peu de pratique.

Il y a deux fautes possibles :

- 1° Laisser échapper des formes parasitaires sans les voir ;
- 2° Faire des erreurs de lecture.

Dans la première catégorie, il faut faire entrer en première ligne les petits parasites en général, tels que les trichomonas ou les kystes à quatre noyaux (*hartmanni* en particulier). Sur les frottis colorés, l'œil n'est plus attiré par la réfringence particulière que présentent les kystes à l'état frais. Et pour arriver à voir les noyaux petits et à structure délicate, il faut manœuvrer avec soin la vis micrométrique.

La deuxième catégorie, au contraire, comprend les cas où l'on confond des cellules dégénérées avec des formes végétatives d'*Endolimax* ; des polynucléaires avec des kystes. Les formes végétatives de *Chilomastix mesnili* peuvent aussi en imposer parfois pour de petites entamibes, surtout lorsqu'elles sont déformées, et

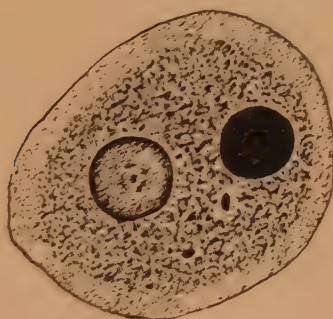
ENTAMŒBA DYSENTERIÆ (histolytica).



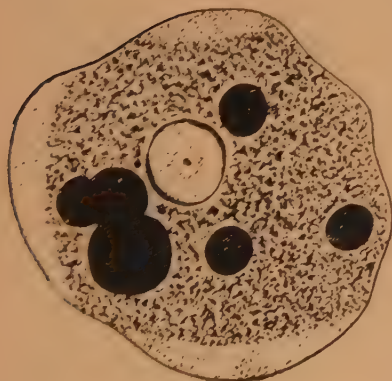
1



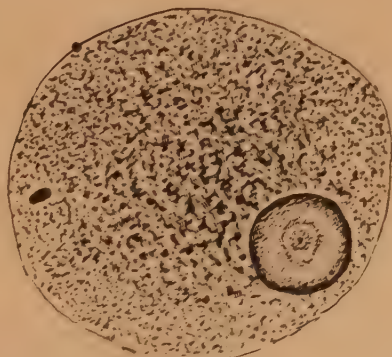
2



4



3



5

Fixation par le liquide de Bouin. — Coloration par l'hématoxyline ferrugineuse.

Les figures de 1 à 5 représentent des amibes provenant d'un dysentérique avant traitement (de 1 à 3) et trois ans après au cours d'une rechute (4 et 5).

Dans 1, 2, 3, 4, on distingue nettement l'ectoplasme et l'endoplasme granuleux contenant des hématies colorées en noir.

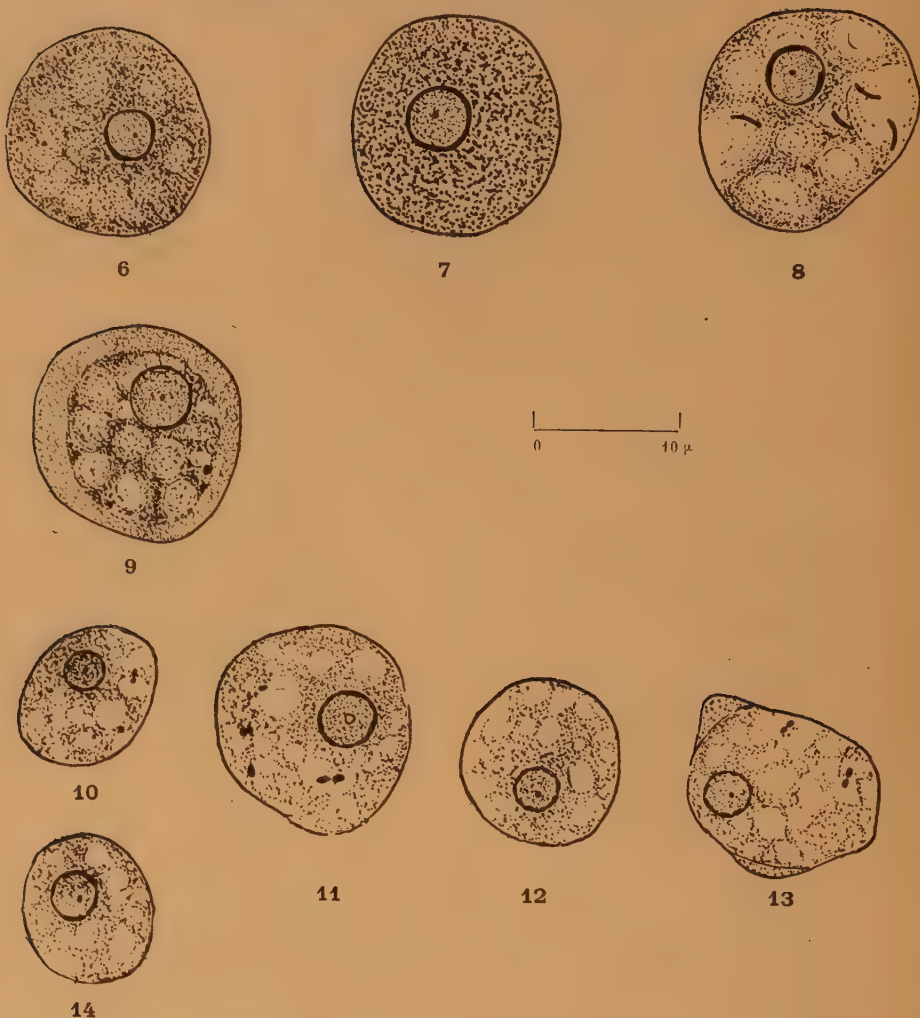
Dans 1 et 3, la chromatine périphérique du noyau est d'aspect classique.

Dans 2, 4, 5, la chromatine périphérique est épaisse.

Dans 4, on remarque à l'intérieur du noyau quelques concrétions chromatiques.

Mais toutes ces amibes ont un cytoplasme granuleux et un karyosome punctiforme et central.

AMIBES DU TYPE DYSENTERIQUE



Fixation par le liquide de Bouin. — Coloration par l'hématoxyline ferrique.

Les figures 6, 7, 8, 9, représentent des amibes obtenues par purgation d'un porteur de kystes à quatre noyaux, atteint d'abcès du foie.

Dans 7, le cytoplasme est granuleux.

Dans 6, le cytoplasme est à la fois vacuolaire et granuleux.

Dans 8 et 9, le cytoplasme est vacuolaire.

Dans 9, on voit un ectoplasme différencié.

Dans 8, on voit quelques microbes phagocytés.

Le karyosome n'est nettement central qu'en 9, mais, partout, il est ponctiforme.

Les figures 10, 11, 12, 13 et 14 représentent des amibes obtenues par purgation d'un porteur de kystes à quatre noyaux présentant des troubles intestinaux chroniques.

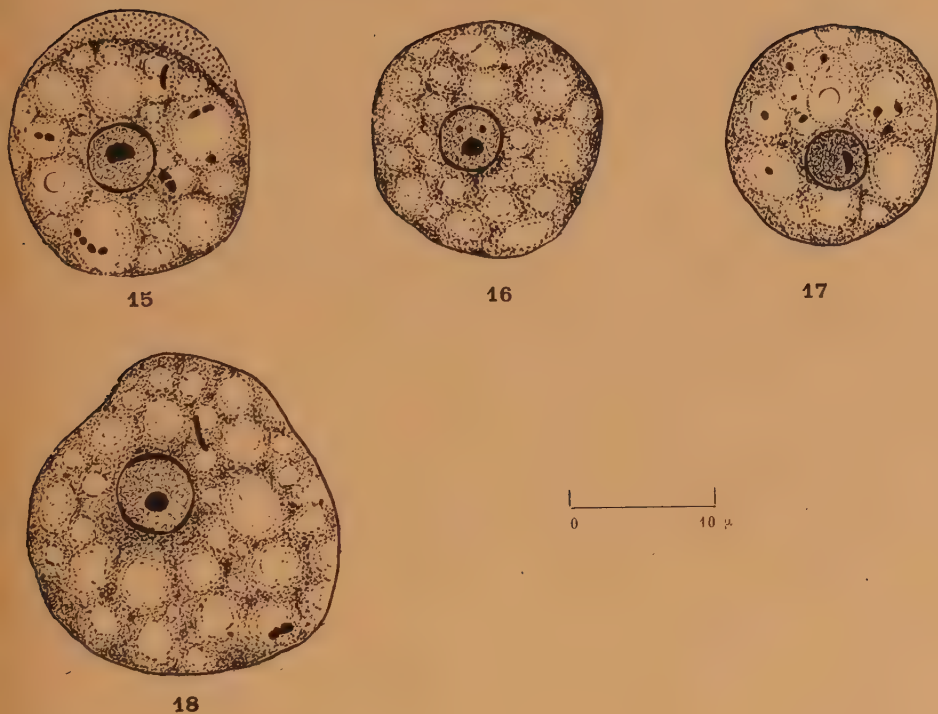
Partout le cytoplasme est vacuolaire.

Dans 13, on voit deux pseudopodes granuleux.

Dans 14, le karyosome est nettement excentrique.

Mais partout le karyosome est ponctiforme (avec l'exception déjà signalée : karyosome en forme de cercle, figure 11).

ENTAMŒBA COLI



Fixation par le liquide de Bouin. — Coloration par l'hématoxyline ferrique.

Les figures 15, 16, 17 et 18 représentent des *Entomæba coli*.

Partout le cytoplasme est vacuolaire.

Dans 15, on remarque un pseudopode granuleux.

Dans 16, le karyosome est accompagné de deux grains chromatiques.

Mais partout le karyosome est épais et en forme de tache.

qu'au lieu d'être allongées, elles sont rondes. Mais en examinant avec soin on arrive à voir que le noyau, dans le cas de ces flagellés, est toujours situé près d'un bord d'où partent les flagelles.

Quant aux blastocystis, on ne doit pas les prendre pour des protozoaires.

CULTURES D'AMIBES

Depuis longtemps, de nombreux auteurs ont essayé de cultiver les amibes. Certains ont réussi pour des amibes non pathogènes (amibes libres, *Endolimax*). Mais il semble prouvé que jamais on n'avait pu faire pousser l'*Entamoeba dysenteriae* jusqu'en 1918, date à laquelle CUTLER décrivit des milieux qu'il ensemença avec des amibes provenant de selles de dysenteriques. Par inoculation, ces cultures donnèrent au chat une dysenterie avec lésions typiques. Et, malgré les objections qui ont été formulées contre ces expériences, on peut admettre que CUTLER a été le premier à réussir les cultures de l'*Entamoeba dysenteriae*. Mais avec des moyens très imparfaits. Et il faut arriver aux travaux de BOECK et DRBOHLAV, en 1924, pour connaître une méthode utilisable pratiquement.

Après de nombreux tâtonnements, la méthode définitivement mise au point repose sur les principes suivants : les amibes doivent être ensemencées sur des milieux formés d'une base solide recouverte d'une couche de liquide nutritif, et le tout placé à l'étuve à 37 degrés.

On a donné un grand nombre de formules pour la préparation de ces milieux. Les résultats obtenus sont sensiblement égaux. Et, pour des raisons de commodité, nous avons surtout employé le milieu de Dobell et Laidlaw.

La base solide est constituée par du sérum de cheval coagulé à 80 degrés en tubes inclinés. (On arrête le chauffage dès que la masse est suffisamment prise pour ne plus se déformer.)

La partie liquide est constituée par du liquide ovomucoïde préparé de la manière suivante :

Dans un flacon à billes de verre stérilisé, on introduit un blanc d'œuf prélevé aseptiquement. Après agitation avec les billes, on incorpore par petites portions 200 cc. de liquide de Ringer à pH = 7.4 :

Eau distillée	4000 cc.
Chlorure de sodium	6 grammes.
Chlorure de potassium	0 gr. 10
Chlorure de calcium	0 gr. 40
Bicarbonate de sodium	0 gr. 40

et on mélange intimement. Le liquide obtenu est trouble. Il doit être filtré sur bougie si on craint de l'avoir souillé. Mais cette filtration est inutile si on a opéré aseptiquement.

On conserve, à part, le liquide ovomucoïde qu'on n'introduit dans le tube de serum coagulé qu'au moment de l'emploi.

Le liquide ovomucoïde doit avoir un pH voisin de 7.4. Et, à ce sujet, il faut se méfier des œufs. Le blanc d'œuf est neutre lorsqu'il est frais. Mais dans les œufs qui ne sont pas du jour, le blanc est parfois franchement alcalin.

Ensemencement. — Après avoir porté au voisinage de 37° les tubes à ensemer, on prélève un peu des selles contenant des amibes (selles fraîchement émise s'il s'agit de formes végétatives) qu'on délaye dans le liquide ovomucoïde sur les parois internes du tube.

S'il s'agit de selles contenant des kystes, on a avantage à faire un enrichissement par le procédé de YORKE-BIDEGARAY et à ensemer le culot soigneusement lavé à l'eau pour le débarrasser de toutes traces de sucre.

Puis on ajoute une pincée d'amidon de riz dans chaque tube, ce qui a pour effet de favoriser le développement des amibes et d'entraver celui des *Blastocystis* toujours préjudiciable aux cultures.

Repiquages. — Les repiquages doivent être d'autant plus rapprochés que les cultures sont plus jeunes. Dans les premiers jours, ils seront quotidiens et systématiques, même si l'examen microscopique ne permet de déceler aucune forme végétative. Il faut parfois plusieurs repiquages avant que les cultures se développent.

Les examens se font à la chambre chaude.

Pour repiquer, on se sert d'une pipette munie d'une tétine en caoutchouc. On la plonge jusqu'au fond du tube, et on aspire avec précautions tout en râclant doucement la surface du serum coagulé. Les quelques gouttes ainsi recueillies sont reportées dans un tube neuf préalablement porté à la température de 37°.

Résultats. — Les cultures réussissent souvent. Mais nous devons avouer que nous avons parfois des échecs. De la manière

dont nous opérons, pour que les cultures aient des chances de pousser, il faut que les selles à ensemercer soient suffisamment riches en amibes. Et si, de rares fois, il nous est arrivé d'avoir des cultures positives à partir de selles où nous n'avions rien trouvé à l'examen microscopique, nous en concluons que, probablement, celui-ci avait dû être insuffisant.

Donc, entre nos mains, les cultures n'ont pas encore pu constituer un procédé sûr de dépistage du parasitisme par les amibes. Mais elles offrent la possibilité de conserver des souches vivantes permettant de procéder à des recherches et à des inoculations.

Dans les cas favorables, les cultures permettent d'avoir en plus ou moins grande abondance des formes végétatives, mais il ne s'en suit pas que leur identification en soit facilitée. A l'état frais les amibes de cultures ont des caractères encore moins nets que dans les selles, et les colorations sont difficiles à réussir.

Après introduction d'une goutte de sang dans les cultures, on peut essayer de voir si les amibes sont hematophages. Cette expérience réussit parfois avec les *Entamæba dysenterix*. Mais si elle est négative, elle est sans signification.

Au cours des cultures, on est frappé par la difficulté d'obtenir des résultats constants. Parfois, comme nous l'avons déjà dit, ce n'est qu'au bout de plusieurs repiquages qu'on obtient des cultures riches. Parfois, au contraire, luxuriantes dès le début, elles ne tardent pas à péricliter au bout de peu de jours.

Lorsqu'à partir d'une souche apparemment vivace, on fait des repiquages dans plusieurs tubes semblables, on constate que, parmi les tubes repiqués, certains donnent naissance à des cultures abondantes, d'autres à des cultures maigres ou nulles. On s'explique difficilement que, dans des conditions identiques, on puisse avoir des résultats aussi dissemblables. Et on a l'impression qu'on est à la limite de possibilité de culture. Pour un rien on échoue, ou on réussit. Ceci montre combien doivent être sensibles les amibes aux moindres modifications extérieures, modifications d'ailleurs inappréciables par nos moyens encore trop grossiers de mesure.

Et ce qu'on observe dans les tubes doit pouvoir se produire dans l'intestin. Ainsi on s'explique les variations qu'on constate dans le nombre des amibes au cours d'examen répétés. Et cette grande variabilité du nombre rend illusoire toute tentative de numérations des amibes. Car, même s'il était prouvé qu'un rapport existe entre le nombre d'amibes trouvées dans les selles et le nombre réel de parasites hébergés par l'organisme, on n'arriverait qu'à évaluer l'importance du parasitisme pour un moment donné sans possibilité de prévoir les modifications des jours ou des heures suivantes. Donc, un seul fait compte dans la recherche des protozoaires intestinaux : leur présence ou leur absence. Leur nombre est trop variable pour que leur numération puisse avoir un intérêt quelconque.

En résumé, les cultures d'amibes, si elles offrent un grand intérêt pour les recherches scientifiques ou la conservation des souches, n'ont jamais donné, jusqu'à présent, entre nos mains du moins, des résultats permettant de les compter au nombre des méthodes utilisables dans la recherche habituelle des amibes.

Cependant SIMIC a préconisé un procédé qui constitue plutôt un enrichissement qu'une culture proprement dite, et qui nous a rendu plusieurs fois service :

Il arrive assez souvent que, dans des selles, on observe quelques amibes végétatives douteuses, mais tellement rares qu'on risque de ne plus les retrouver sur les frottis fixés et colorés. Dans de telles selles, après dilution dans le liquide de Ringer et addition d'amidon de riz, on constate parfois après un séjour de 5 à 6 heures à l'étuve à 37° que non seulement les amibes sont encore vivantes, mais qu'elles se sont même multipliées. Il ne reste plus alors qu'à faire des frottis, à les fixer et à les colorer, pour pouvoir procéder aux identifications.

Mais, là encore, la réussite n'est pas assurée d'une manière certaine; les amibes peuvent très bien être aussi rares le soir qu'elles l'étaient le matin. Néanmoins, étant donné sa grande simplicité, ce procédé doit être essayé chaque fois qu'il est nécessaire.

CONCLUSIONS

I. — Les protozoaires intestinaux constituent un groupe de parasites dont le rôle pathogène est variable et, souvent, mal connu.

Parmi eux, un parasite mérite une place à part, à cause de son évolution particulière : c'est l'*Entamœba dysenterix*, pathogène par intermittences.

Mais il existe d'autres amibes ne présentant jamais de stade offensif (dispar, hartmanni) qui ne peuvent se distinguer des *Entamœba dysenterix* non hématophages que par des caractères biologiques difficiles à mettre en évidence par les méthodes courantes de recherche.

Il est donc nécessaire d'englober dans un même groupe, quoique morphologiquement semblables, les amibes qui peuvent devenir pathogènes et celles qui restent toujours inoffensives. C'est ce que nous appelons le groupe des amibes du *type dysenterique*.

Le traitement d'épreuve émélinien peut, dans une certaine mesure, renseigner sur les rapports existant entre le parasitisme et les troubles observés; mais il est incapable de donner la moindre indication sur l'espèce amibienne en cause.

II. — La recherche des kystes est sujette à des causes d'erreurs :

1° A des difficultés d'ordre technique ;

Enrichissements rendus défectueux par la présence, dans les selles, d'éléments de même densité que les kystes (amidon, cellulose).

2° Aux lois propres de l'évolution des parasites :

Absence de kystes connus chez certains d'entre eux (*Trichomona intestinalis*, *Dientamœba fragilis*); et surtout existence de périodes négatives chez les autres.

L'identification des kystes, bien que généralement facile, peut, parfois, offrir de sérieuses difficultés, principalement après enrichissements, à cause des altérations produites par les réactifs employés.

On pourra, en partie, obvier à ces inconvénients en multipliant les examens, sans qu'on puisse toutefois en fixer le nombre, la durée des périodes négatives étant essentiellement variable; trois ou quatre suffiront dans la plupart des cas; d'autres fois, il en faudra davantage. De plus, il est avantageux de varier les techniques employées.

III. — La recherche des formes végétatives présente quelques avantages :

1° Il n'existe pas de périodes négatives proprement dites. Pour mettre en évidence ces formes, il suffit d'amener les selles à la consistance optima par l'usage de purgatifs (sulfate de soude à dose massive unique ou à doses faibles répétées plusieurs jours de suite, selon la susceptibilité des sujets).

2° Pratiquée dans de bonnes conditions, la recherche des formes végétatives permet d'arriver à un résultat satisfaisant avec un nombre restreint d'examens.

3° Par cette technique, on évite de laisser inaperçus les *Trichomonas intestinalis* et les *Dientamœba fragilis*.

Par contre, cette recherche des formes végétatives offre un inconvénient : la difficulté des identifications d'espèces. On doit alors nécessairement recourir à la méthode des frottis humides fixés et colorés. Sur de tels frottis, on reconnaît généralement,

avec facilité la plupart des parasites. Le seul écueil réside dans la distinction entre les *Entamœba coli* et les amibes du *type dysenterique*.

Bien qu'il soit impossible de donner des caractères absolus, il semble bien que leur aspect granuleux spécial, quand il existe, constitue un bon signe en faveur des amibes du *type dysenterique*. Mais c'est surtout l'étude du karyosome qui est instructive. Celui-ci peut être central ou non, mais, le plus souvent, il a la forme d'un point dans les amibes du *type dysenterique* et la forme d'une tache dans les *Entamœba coli*.

Les cultures, jusqu'à présent, ne nous ont pas donné de résultats suffisamment constants pour qu'on puisse les compter au nombre des méthodes utilisables dans la recherche habituelle des amibes.

En résumé, la recherche des protozoaires intestinaux est rarement une recherche facile. Il n'y a pas une « méthode type », mais, au contraire, des procédés divers ayant chacun leurs qualités et leurs défauts. Il ne faut pas craindre, par conséquent, de mettre en œuvre simultanément plusieurs techniques si l'on désire obtenir un diagnostic parasitologique exact.

A notre avis, toute diagnose de protozoaires intestinaux devra être établie obligatoirement sur la recherche et l'identification simultanée des kystes et des formes végétatives, non seulement dans des selles naturelles, mais encore dans des selles de purgation pâteuses et liquides.

L'inoculation intrarectale au jeune chat, réactif spécifique de l'amibose, constituera, en outre, la méthode expérimentale de choix pour le diagnostic positif de l'*Entomœba dysenterix*.

Vu, le Doyen :
BALTHAZARD.

Vu, le Président :
BRUMPT.

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris :
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERT (H.) : Technic of examination of faeces for amebas and other intestinal protozoa (*Arch. path. and Lab. Méd.*, 3 : 233-237, févr. 1927).
- BARADUC (F.) : Les colites amibiennes chroniques méconnues (*La Pratique médicale française*, 1926, n° 2, p. 88-94).
- BARTHÉLÉMY : *Essai de coprologie microscopique* (1917, Paris, Vigot, éd.)
- BACER : Les modes de recherche des parasites intestinaux (*Monde médical*, 1923, n° 624, p. 325).
- BENSAUDE (R.) : *Journal médical français*, 1912.
- BENSAUDE (R.) et FLORAND : Communication (*Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1917).
- BENSAUDE (R.), CAIN, (A.) et TERRIAL (G.) : Remarques sur 103 cas d'amibiase constatés en trois ans dans un service hospitalier de Paris (*Arch. mal. app. digest.*, 1930, XX, n° 3, p. 2-19).
- BIDEGARAY (H.) : Étude statistique et critique du parasitisme intestinal (Thèse, Paris, 1927).
- BIDEGARAY (H.) : Nouvelle coloration pour l'examen microscopique des selles (*Ann. de Parasitologie*, 1926, t. IV, n° 3, p. 385).
- BOECK (W.-C.) : A rapid method for the detection of protozoan cysts in faeces (*Arch. of California Publ. in Zool.*, 1917, XVIII, p. 145).
- BOECK (W.-C.) : Chilomastix mesnili and a method for its culture (*Jour. of Exp. Med.*, 1921, 33, p. 147).
- BOECK (W.-C.) : Giardiasis in man. Its prevalence and relation to diarrhea and to gallbladder disease (*Arch. of intern. Med.*, XXXIX, 1927, p. 133-138).
- BOECK (W.-C.) and DRECHLAV (J.) : The cultivation of Entamoeba histolytica (*American Jour. of Hyg.*, 1925, V, p. 371-407).
- BOYD (W.) : The detection of lamblia (Giardia) intestinalis by means of the duodenal tube (*Canada Méd. ass. Journ.*, 1921, XI, p. 658).
- BREG : La coloration des Entamibes intestinales des selles (*Bull. Soc. de path. exot.*, 1919, p. 71).
- BREG : Die Jodsystem (*Arch. f. Schiffs und Tropfen Hyg.*, 1921, XX, p. 47).
- BRUMPT (E.) : Protozoaires des selles aux armées (*C. R. Soc. Biol.*, 1918, LXXXI, p. 1044).
- BRUMPT (E.) : L'étuve à microscope de N. Foot (*Ann. Parasito.*, 1923, III n° 3).
- BRUMPT (E.) : Étude sommaire de l'Entamoeba dispar, n. sp. amibe à kystes quadrinuclées, parasite de l'homme (*Bull. Acad. Méd. Paris*, 1926, XCIV, n° 35, p. 943-952).
- BRUMPT (E.) : Quelques faits nouveaux concernant les amibes intestinales de l'homme et leur culture (*Bull. Méd.*, 1926, XV, n° 5, p. 105-109).

BRUMPT (E.) : L'Entamœba coli peut-elle être pathogène pour l'homme? Expérimentalement elle peut l'être pour le chat (*Bull. Acad. de Méd. Paris*, 1926, XCV, n° 11, p. 284-293).

BRUMPT (E.) : Individualité de l'Entamœba dispar (*Bull. Soc. de pathol. exot.*, 1926, XIX, n° 6, p. 399-402).

BRUMPT (E.) : Infection expérimentale du chat par l'Entamœba coli (*Ann. de Parasitol.*, 1926, IV, n° 3, p. 272).

BRUMPT (E.) : *Précis de parasitologie* (1927, 4^e éd., Paris, Masson, édit.).

BRUMPT (E.) : Pluralité des amibes intestinales humaines à kystes à quatre noyaux (*Bull. de l'Institut de clinique chirurgicale de Buenos-Ayres*, 1930).

BRUMPT (E.) : Différenciation des amibes intestinales humaines à kystes à quatre noyaux (*In transaction of the Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, Vol. XXII, n° 2). — Discussion consécutive (W. Yorke, L. Lenke, J.-G. Thomson, Wenyon, Leidelin, Hanschell).

CADE et HOLLANDE : L'entérite à giardia (lamblia) intestinalis (*Arch. mal. app. digest.*, 1919, X, p. 193).

CAIN (A.) : Cholécystite et lambliaze (*Arch. des maladies de l'app. digest. et de la nutrition*, 1929, XIX, p. 316).

CAIN (A.) : Les porteurs d'amibes. État actuel de la question (*Revue critique de patho. et de thérap.*, févr. 1930).

CAIN (A.) et TERRIAL (G.) : Les épreuves de laboratoire dans le diagnostic de l'amibiase (*La Pratique méd. franç.*, nov. 1930).

CARLES (J.) : Les entérites chroniques à Lamblia (*Journ. de Méd. de Bordeaux*, 1919, 25 mai, p. 187).

CARLES (J.) et BARTHÉLÉMY (E.) : Procédé spécial d'homogénéisation et de tamisage pour collecter les kystes dysentériques contenus dans les selles (*C. R. Soc. de Biol.*, 1917, LXXX, 21 avril).

CARLES (J.) et BARTHÉLÉMY (E.) : Les procédés d'enrichissement des selles en coprologie (*Journ. de Méd. de Bordeaux*, sept. 1917).

CARLES (J.) et BARTHÉLÉMY (E.) : La recherche des kystes dysentériques (*Paris médical*, 1^{er} déc. 1917).

CARLES (J.) et BARTHÉLÉMY (E.) : L'examen des selles dans la dysenterie amibienne (*Arch. de méd. expér. et d'anat. patho.*, XXVII, n° 6).

CARLES (J.) et FROUSSARD : Les reviviscences de la dysenterie amibienne (*Progrès médical*, 5 déc. 1917).

CARNOT et TURQUETY : Les maladies d'importation exotique depuis la guerre. Amibiase (*Paris méd.*, 1^{er} déc. 1917).

CARNOT et GAELINGER : Lambliaze vésiculaire ou duodénale? Présence de lamblia dans la bile vésiculaire après injection hypophysaire (*Paris méd.*, 15 mai 1926, p. 175).

CARNOT, LIBERT et GAELINGER : La giardiose vésiculaire (lambliaze vésiculaire) (*Paris méd.*, 16 mai 1925, p. 457).

CARVAILLO et SAUTET : Recherches expérimentales sur quelques localisations extra-intestinales de l'amibose (*Ann. de Parasitol.*, 1926, IV, n° 4, octobre).

CASSAGRANDE et BARBAGELLO : Entamœba hominis s. Amœba coli (Losch) (*Studio biologico e clinico. Ann. Igien. speriment.*, 1897, VII, p. 103).

CASTEX (M.) et GALAN (J.-C.) : La giardiasis de las vias biliares (*Arch. argent. expermed. app. digt.*, oct. 1923).

CASTEX (M.) et GALAN (J.-C.) : La giardiose duodénale (*Arch. des mal. de l'app. digest. et de la nutrition*, 1926, XVI, p. 633).

CASTEX et GREENWAY : Le rôle pathogène de *Chilomastix mesnili* (*Bull. Soc. de pathol. exot.*, 1925, p. 137).

CASTEX et GREENWAY : Les protozoaires dans l'intoxication intestinale (*Bull. Soc. de pathol. exot.*, 1925, p. 177).

CHARPIN : L'amibiase chronique en France. Étude clinique (*Thèse*, Paris, 1919).

CHATTON : L'éclosion des kystes et les premiers stades de l'évolution de l'amibedysentérique humaine chez le chat (*Bull. Soc. Path. exot.*, 1917, p. 834.)

CHATTON : Amibiase intestinale expérimentale du cobaye à *Entamoeba dysenteriae* (*Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis*, 1923, X, n° 3, p. 13).

CHAUFFARD : La dysenterie amibienne chronique (*Presse médicale*, 14 mai 1913).

CHAUFFARD : Les rechutes dans la dysenterie amibienne (*Bull. méd.*, 13 déc. 1913).

CHEREFEDDIN (O.) : New method for conservation of amebae (*Deutsch. Med. Woch.*, 55 : 1084-1085, 28 juin 1929).

CHIRAY et LEBON (G.) : A propos de la lambliaze vésiculaire (*Bull. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 30 oct. 1925).

CIOCALTEN et M^{lle} NICOLESCO : Les hémorragies occultes dans les injections avec le cyanure de mercure (*Bull. et Mém. de la Soc. méd. des hôp. de Bucarest*, VI, 1924, p. 32).

CLARK (H.) The distribution and complications of amœbic lesions found in 186 post mortem examinations (*Proc. Intern. conference on Health Problems in Trop. America*, 1924, p. 363).

CLAYTON-LANE : The technic of the levitation method (*Indian Journ. méd. research.*, 1919, VII, p. 229).

CONSTANTINI : De la fréquence de l'amibiase « camouflée » (*Algérie méd.*, 1928, n° 9, p. 439).

CRAGG : A contribution to our knowledge for *Entamoeba coli* (*The Indian Journ. of Med. Research.*, 1919, VI, p. 462).

CRAIG : *Parasitic protozoa of man*, 1926.

CRAPPER (J.-W.) et HAROLD ROW (R.-W.) : A method of concentrating *Entamoeba* cysts in stools (*Lancet*, 13 fév. 1917).

CUBIDES (H.-A.) : Étude clinique des porteurs de germes amibiens (*Thèse*, Paris, 1930).

CUTLER : A method for the cultivation of *Entamoeba histolytica* (*Journ. Patho. and Bact.*, XXII, 1918, p. 27).

DAMADE : Le tubage duodénal (*Journ. de Méd. de Bordeaux*, 10 mai 1922 et *Gazette des Hôpitaux*, 26 août 1922, n° 66, p. 1064).

DALEY-MAC DONALD : Some limitation of the flotation method of fecal examination (*Journ. of laboratory and clinical med.*, 1920, V, n° 6).

DARLING : The examination of stools for cysts of *Entamoeba tetragena* (*Journ. trop. méd. hyg.*, 2 sept. 1912).

DARLING : The rectal inoculation of kittens as an aid in the determining the identity of pathogenic *entamoeba* (*Bull. soc. path. exot.*, 1913, VI, p. 149).

DEGLAS : Troubles intestinaux chroniques par présence de parasites autres que l'amibe dysentérique (*Bull. méd.*, 1917).

DERRIEN et RENAUD : Dysenterie chronique à flagellé nouveau (*Bull. soc. path. exot.*, 1914, VII).

DESCHIEENS (R.) : Les entérites à giardia (*Thèse*, Paris, 1921).

DESCHIEENS (R.) : Le rôle pathogène de *Giardia intestinalis* (*Arch. des mal. de l'app. digest. et de la nutrition*, 1923, p. 136).

DESCHIEENS (R.) : Sur l'habitat et la répartition des giardia chez les porteurs sains et les porteurs malades (*Bull. soc. path. exot.*, 1923, p. 735).

DESCHIEENS : Variations tinctoriales et morphologie de giardia intestinales (*Bull. soc. path. exot.*, 1923, XVI, p. 323).

DESCHIEENS (R.) : Comment dépister les infestations parasitaires du tube digestif (*Presse médicale*, 1^{er} janvier 1927).

DESCHIEENS : Recherches sur l'infection des voies biliaires par les lamblies (*Arch. mal. app. digest.*, 1930, XX, p. 951).

DOBELL (C.) : The amoeba living in man (Londres 1921).

DOBELL (C.) and LAIDLAW : On the cultivation of *E. histolytica* and some other entozoic amoeba (*Parasitology*, 1926, XVIII, p. 283).

DOBELL and JEPPI (M.-W.) : On the three common intestinal entomoeba of man and their differential diagnosis (*British med. journ.*, 1917, I, p. 607).

DOBELL (C.) and O'CONNOR : The intestinal protozoa of man (Londres, 1921).

DOBELL (C.) and STEVENSON : A note on the duration of infections with *entamoeba histolytica* (*Trans. soc. trop. med. hyg.*, 1918, X).

DOBLEIN : Lehrbuch der Protozoenkunde, 1916.

DRBOHLAV (J.) : Culture d'*Entamoeba coli*, Lœsch, 1875, emend, Schaudin, 1903 (*Ann. de parasitol.*, 1925, III, n° 4, p. 364-366).

DRBOHLAV (J.) : Nouvelles preuves de possibilité de cultiver l'*Entamoeba dysenteriae*, type *histolytica* (*Ann. parasitol.*, 1925, II, octobre, p. 349).

DRBOHLAV (J.) : Culture de *Entamoeba dysenteriae*, type *tetragena minuta* (*Ann. de parasitol.*, 1925, III, p. 358).

FAIRISE et JANNIN : Dysenterie chronique à lamblia, étude parasitologique et anatomo-pathologique (*Arch. méd. exp. et anat.-pathol.*, 1913, p. 528).

FAIRISE et JACQUOT : Colite ulcéreuse due à un parasite flagellé, le *Lamblia intestinalis* (*Arch. mal. app. digest.*, 1913, p. 301).

FANTHAM and PORTER : The pathogenicity of *giardia intestinalis* to men and to experimental animals (*British med. journ.*, II, 1916, p. 139).

FEISENREICH et SATKE (*Gesellsch. f. innere med. und Kinderheilkunde Wien*, 19 avril 1923; *Virchow's Archiv.*, CCXLV, 1923, p. 364).

GAUDUCHEAU : Remarques sur les amibes cultivables, parasites de l'intestin de l'homme (*Bull. soc. path. exot.*, 1922, XV, n° 4).

GAULTIER (R.) : *Précis de coprologie clinique* (1914, Paris, Masson édit.).

GIRAUD et LE BOURDELES : A propos du rôle pathogène possible d'*Entamoeba*

coli dans certains syndromes dysentériques (Journ. de méd. et de chir. de l'Afrique du Nord, 1922, p. 496.)

GOIFFON (R.) : L'Entamœba coli, signe de stagnation colique droite (Soc. gastro-entérologie, 7 juillet 1930; Arch. mal. app. digestif, XX, 1930, p. 964-968).

GOIFFON (R.) et ROUX (J.-C.) : Les entérites à lamblia (Arch. mal. app. digest., 1918, p. 194).

GRASSI : (Archives italiennes de biologie, 1888) (in Deschiens).

GUIART (J.) : Précis de parasitologie (Paris, 1922, Baillière édit.)

GUIART, GARIN et LÉGER : Précis de médecine coloniale (Paris, 1929, Baillière édit.).

HALL (M.-C.) A comparative study of methods of examining faeces for evidence of parasitism (Journ. of med., 1911, XIV, p. 169).

HALL (M.-C.) Apparatus for use examining faeces for evidence of parasitism (Journ. of laboratory and clinical med., 1917, II, n° 5).

HAMMERSCHMIDT : Zur Pathogenese der Amœbenkolitis (Arch. f. Schiff's und Trappen Hyg., XXIII, 1919, p. 291).

HEGNER (R.-W.) and BECKER (E.-R.) : On diagnosis of intestinal flagellates by culture methods (Journ. of Parasito., 1922, IX, p. 15).

HEGNER (R.-W.) and CORT (W.-W.) : Diagnosis of Protozoa and Worms Parasitic in man (1921, Baltimore).

HEMMETER (J.-C.) : Clinical notes on intestinal infection with Giardia duodenalis (Trans. Amer. gastro-enterological Assoc., 1920).

HOLLANDER (E.) : Giardia intestinalis infection (Arch. of internat. med., XXXII, 1923, p. 522-529).

HOROWITZ (A.), SAUTET (J.) et TERRIAL (G.) : Remarques sur le rôle pathogène de quelques protozoaires, parasites intestinaux de l'homme (Arch. mal. app. digest., 1930, XX, p. 582-599).

IZARD (L.) : La lambliaose vésiculaire (à propos de trois observations) (Toulouse Médical, 1^{er} juin 1928, p. 321-326).

JAUSION : Les dysenteries à Fez (Arch. de l'Afrique du Nord, 1922, 11 sept., p. 377).

JAUSION et DEKESTER : L'amibiase à Fez (C. R. Congrès d'hyg. et prévoyance sociale, Marseille, 1922, p. 174).

JEPPS (M.-W.) and DOBELL (C.) : Dientamœba fragilis n. g., n. sp., a new intestinal amœba from man (Parasitology, X, p. 352).

JOHNS (F.-M.) : Cultural methods and direct microscopic examination in diagnosis of pathogenic amebas (South M.-J., 23, 236-238, mars 1930).

JOYEUX (Ch.) : Précis de médecine coloniale : 1927.

JUILLET, GALAVIELLE et BOUSQUET : Recherches sur la faune parasitaire de l'homme à Montpellier et dans les environs (Bull. soc. pharmacologique, XXIV, p. 425).

KARTULIS (S.) : Einiges ueber die Pathogenese der Dysenterieamöben (Centralbl. Bakt., 1891, I. Abt., IX, 365).

KARTULIS (S.) : Die Amöbendysenterie (Kolle et Wassermann's Handb. d. path. Mikroorg., 1913, 1st édition, Ergänzungsband, I, 347).

KANTOR (J.-I.) : *Lambliia* (Giardia) infection associated with cholecystitis (*Arch. of intern. med.* XXXII, 1923, p. 693-704).

KESSEL (J.-G.) : Experimental infection of rats and mice with the common intestinal amœbe (*Univ. California public zoologie*, XX, p. 401).

KESSEL (J.-G.) : Amœbiasis in Kittens infected with amœba from acuba and "carrier" human cases and with the tetranucleate amœba of the monkey and of the pig (*The american journ. of hygiene*, 1928, VIII, p. 311).

KIRSZBLUM (R.) : Cholécystite à *Lambliia* (Giardia) (*Thèse*, Paris 1930).

KOFOID (Ch.) : A simplified medium for the cultivation of *Entamœba dysenteriae* (*Journ. of laboratory and clinical med.*, 1926, XI, n° 7, p. 683).

KOFOID (Ch.) and BOYERS : A report of an investigation of intestinal protozoa (*Rep. ann. med. united. trinit.*, Boston, mars 1925).

KOURI (P.) : Valor de la coloracion por el metodo de Gram en la investigacion de los protozoarios parasitos del intestino del hombre (*Vida Nueva*, 25, 448-472, 15 mai 1930).

KOURI (P.) : Proposition de un modelo de informe de analisis parasitologico de heces fecales (*An. de Vias digest. sangre y nutricion* 2, 57-74, août 1930).

KUENEN und SWELLENGREBEL : Die *Entamœben* des Menschen und ihre practische Bedeutung (*Centralblatt J. Bakt. I. Drig.*, LXX, 1913).

LABBÉ (M.) et NEPVEUX (F.) : Le séjour de *Lambliia intestinalis* dans la vésicule biliaire (*Soc. gastro-euterologie*, 8 juin 1925; *Arch. des maladies de l'app. digest. et de la nutrition*, 1925, XV, n° 6).

LABBÉ (M.), NEPVEUX (F.) et GRAVILA : La lambliose vésiculaire (*Bull. soc. méd. des hôp. de Paris*, 13 nov. 1925).

LANGERON (M.) : *Précis de microscopie* (4^e éd. 1927. Masson, édit., Paris).

LANGERON (M.) et RONDEAU DU NOYER (M.) : Coprologie microscopique 1926. Paris, Masson édit.).

LENOIR (P.) et DESCHIENS (R.) : Etude statistique concernant des infestations parasitaires du tube digestif à Paris (*Arch. mal. app. digest. et nutrition*, 1924, XIV, n° 4).

LIBERT et LAVIER : Sur l'habitat de *Giardia intestinalis* chez l'homme. Précisions fournies par le tubage duodénal (*Bull. Soc. path. exot.*, 1923, XVI, p. 589-591).

LOEBER (J.) : Ueber morphologische Untersuchungen der Duodenatsaftes (*Münchener Mediz. Woch.*, 25 mai 1923, p. 667).

LYNCH (K.-M.) : Intestinal flagellate infestation clinical analysis (*Journ. amer. assoc.*, LXXXVII, 1926, p. 4-6).

LYON (V.) and SWALM (W.-A.) : Giardiasis its frequency, recognitions, treatment and certain clinica! factors (*Americ. journ. of med. sciences*, CLXX, 1925, p. 348-364).

MAC GILL : Giardiasis (*Journ. amer. méd. assoc.*, LXXXVIII, 1922, p. 179-180).

MAGATH (T.-B.) and WARD (C.-B.) : Laboratory methods of diagnosing amebiasis (*Americ. journ. hyg.*, 8 : 840-857, sept. 1928).

MARCHEUX : L'amibe dysentérique est-elle bien la cause de la dysenterie? (*Bull. soc. patho-exotique*, 1918, XI, p. 837).

MARTINEAU-LEMOINE (M.-H.) : Contribution à l'étude des protozoaires intestinaux (*Thèse pharmacie*, Paris, 1924).

MATHIS (C.) : Procédé rapide de fixation et de coloration pour reconnaître aisément les kystes des amibes dans les selles (*Bull. soc. médico-chir. de l'Indo-Chine*, 1914, V., p. 182).

MATHIS (C.) : Les difficultés de la recherche et du diagnostic des entamibes intestinales (*Paris médical*, 17 mai 1919).

MATHIS (C.) et MERCIER (L.) : Existe-t-il des races d'Entamoeba dysenteriae à plus de quatre noyaux? (*C. R. soc. biol.*, 1917, LXXX, p. 191).

MATHIS (C.) et MERCIER (L.) : Identification des kystes des entamibes intestinales de l'homme (*Presse médicale*, 22 juin 1907).

MATHIS (C.) et MERCIER (L.) : L'amibe de la dysenterie (*Bull. Inst. Pasteur*, 15 nov. 1916).

MORENAS (L.) : Quelques données pratiques sur la lambliose (*Lyon médical*, CXXXVI, 6 et 13 sept. 1925, p. 277-283 et 305-311).

MORENAS (M.) : La giardose des voies biliaires (*Ann. de parasito*, VIII, n° 2, p. 201-214).

MOURICQUAND et DEGLOS (E.) : Entérite chronique des amibiens (*Presse méd.*, 1^{er} décembre 1917).

MUSGRAVE : Intestinal amœbiasis without diarrhoea (*Philippine Journ.*, vol. V, p. 229).

NEVEU-LEMAIRE (M.) : (*Précis de parasitologie*, — Paris 1921, Lamarre, édit.).

NÖLLER : *Die wichtigsten parasitischen Protozoen*, 1922.

ORTICONI et CAZZOLA : Entérite dysentérique par Amœba coli (*Presse médicale*, 1922, p. 1052).

PAPPALARDO : *Riforma medica*, 1925, n° 50.

PIETRA (P.) et ALLODI (A.) : La lambiasi delle vie biliari con osservazione di II casi de colecistite associata a presenza di lamblie nella cistifellia (*Minerva medica*, 1927, VII, p. 757-776).

PITTALUGA : *Protozooglia*, 1923.

POUELAN (H.) : Contribution à l'étude du parasitisme intestinal dans la région parisienne (*Thèse*, Paris, 1926).

PRINGAULT : Le parasitisme intestinal dans la région marseillaise (*Bull. soc. patho. exot.*, 1921, XIV, p. 151).

RAVAUT et KROLUNITSKY : Les kystes amibiens. Importance de leur recherche dans le diagnostic et la pathogénie de la dysenterie amibienne (*Presse médicale*, 3 juillet 1916).

RAVAUT et KROLUNITSKY : Quelques notions de technique pratique sur la recherche microscopique des amibes et de leurs kystes (*Presse médicale*, 28 juin 1917).

RAVAUT : L'amibiase chronique en France à la fin de 1916 (*Presse médicale*, 8 février 1917).

RAVAUT : Syphilis, paludisme, amibiase (Masson, édit., 3^e édit.).

REES : Pathogenesis of intestinal Amœbiasis in Kittens (*Arch. of Parasitology*, 1929, VII, p. 1).

REHREN (W.) : Beitrag zur Frage der Pathogenität der *Lamblia intestinalis* bei Erkrankungen der Gallenwege und Leber (*Klinische Wochenschrift*, 1924, III, p. 1079).

RICHEL (fils) : Contagion de la dysenterie amibienne dans la zone tempérée (*Soc. méd. des hôp. de Paris*, 10 décembre 1926).

RIFF : Sur la présence de l'*Amœba Coli* dans un kyste de l'appendice et sur son rôle possible dans l'étiologie de ce kyste (*C. R. soc. biol.*, 1920, XXXIII, p. 238).

ROBIN (A.) : Sur une nouvelle méthode d'enrichissement (*C. R. soc. biol.*, 1923, 24 mars, XCII, p. 1093).

ROBIN (A.) : Recherches personnelles sur le parasitisme intestinal dans la région de Bordeaux (*Thèse Bordeaux*, 1923, n° 30).

ROQUES, MORENAS et DELORE : La dysenterie à *Lamblia* à la Société médicale des hôpitaux de Lyon (*Lyon médical*, 26 juillet 1923).

ROTHMANN-MANNHEIM : Untersuchungen ueber die zelligen Bestandteile der durch Duodenal-Sondierung gewonnen galligen Flüssigkeit (*Mitteil Grenzgeb.*, XXXIII, 1921).

ROUX (J. C.) : Notes sur certaines entérites à flagellés « *Tetramites mesnili* » (*C. R. soc. gastro-entérologie*, 13 octobre 1924; *Arch. mal de l'app. digestif*, XIV, 1924, p. 836).

SAUTET (J.) : Action de l'amidon sur les cultures d'amibes (*Ann. de parasitol.*, 1926, IV, n° 4, p. 345).

SAUTET (J.) : Pouvoir pathogène des cultures d'*Entamœba dysenteriae* faites en présence d'amidon de riz (*Ann. de parasitol.*, 1929, VII, p. 140-144).

SAUTET (J.) : Quelques remarques sur les cultures d'*entamœba dysenteriae* (*Ann. de parasitol.*, 1929, VII, n° 1, p. 64-79).

SAUTET (J.) : Contribution à l'étude de la dysenterie amibienne expérimentale chez le chat (*Revue méd. et hyg. trop.*, mars-avril 1930).

SAUTET (J.) : Formation des kystes bleus de *Giardia intestinalis* (*Ann. de parasitol.*, 1929, VII, p. 193-195).

SAUTET (J.) et TERRIAL (G.) : Quelques remarques sur la cytologie des selles (*Revue méd. et hyg. trop.*, 1930, XXII, n° 6, p. 257-260).

SAVIGNAC (S.) : Discussion de la communication d'A. Cain à la Société de gastro-entérologie du 11 février 1929 (*Arch. mal. de app. digest. et de la nutrition*, XIX, mars 1929).

SAVIGNAC (S.) : A propos d'une statistique de huit cas d'amibiase (*Arch. mal. app. digest. et de la nutrition*, nov. 1929).

SCHILL (E.) : *Lamblia intestinalis* ueben Zeichen von cholelithiasis (*Deutsche med. Wochenschrift*, LIV, 1928, p. 1337).

SIGALAS (R.) et PIROT (R.) : Un nouveau procédé d'enrichissement des selles en coprologie (*C. R. soc. biol.*, XC, 11 mars, p. 755).

SILVERMANN : (*New Orleans med. and Surgical journ.*, 1923, LXXV, p. 585-604).

SIMIC (T.) : La résistance des amibes pathogènes à l'action du froid, de la chaleur et de la lumière solaire (*Ann. de parasito.*, 1930, VIII, p. 223-230).

SIMIC (T.) : Faut-il attribuer à l'amidon de riz la perte de l'action pathogène des amibes de culture (*Ann. de parasito.*, 1930, VIII, p. 577-581).

SIMON (S. K.) : Discussion de la communication de Lynch (*Journ. Amer. Med. Assoc.*, 1926, LXXXVII, p. 7).

SMITH (A. M.) : A contribution to the question of number of races in the species *Entamoeba histolytica* (*Ann. of Trop. med. and Parasit.*, 1919, XIII, p. 1).

SMITHIES (E.) : Parasitosis of the bile passage and gall bladder (*Amer. journal. of med. sciences*, 1928, CLXXVI, p. 223-252).

SWELLENGREBEL et SCHIESS : Quelques remarques sur la morphologie de l'*Entamoeba histolytica* et la valeur diagnostique de l'infection rectale des chats (*Bull. soc. patho. exot.*, 1917, p. 13).

TELEMANN (W.) : Eine method zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in der Föces (*Deutsch. med. Woch.*, XXXIV, 1908, p. 1510).

THOMSON (J. G.) : Pseudo parasites in the fœces of man (*The proud. of the royal soc. of med.*, 1926, XIX, p. 14).

THOMSON et ROBERTSON : Protozoogly, a manual for medical men (Baillière, Tindall et Cie, Londres, 1929).

URAONDO (C. B.) : Le problème étiologique des colites ulcéreuses chroniques (*Arch. mal. app. digestif*, XVIII, 1928, p. 1081-1114).

WALKER : A comparative study of the amœbæ in the manila wather supply, in the intestinal tract of healthy persons and in amœbic dysentery (*Philippine journ. of Sciences*, Sec. B., VI, 1911).

WALKER et SELLARDS : Experimental Entamœbic dysentery (*The Philippine journ. of Sciences*, VIII, 1913, p. 253).

WENYON : *Protozoogly*.

WENYON : The morphology of the intestina amœbæ of man (*British med. journ.*, 1913).

WENYON et O'CONNOR : Human intestinal Protozoo in the near East (*Journ. of the Royal Army med. corp.*, XXVII, 1917).

WESTPHAL (K.) et GEORGI : Ueber die Beziehungen der *Lambliia intestinalis* zu Erkrankungen der Gallenwege und Leber (*Münchener med. Wochenschr.*, 7 août 1923, p. 1080).

WILLIAMSON (S.), BTAPLAN et GEIGER (J.-C.) : Coup d'œil sur la dysenterie amibienne à Chicago (*Arch. mal. app. digestif*, avril 1930).

WINKLER : *Lambliia intestinalis* et cholecyste (*Medizinische Klinik*, n° 35, 1926).

YORKE et ADAMS : 1° Development of Cysts, excystation and development of encysted amœba in vitro. — 2° Longevity of the cysts in vitro, and their resistance to heat and to various drugs and chemicals (*Ann. trop. med. and Parasitol.*, XX, p. 279).

TABLE DES MATIÈRES

	Pag ^{es} .
I. Introduction	11
II. Les Protozoaires intestinaux	13
<i>Flagellés</i>	13
Chilomastix mesnili et trichomonas intestinalis	13
Giardia intestinalis	14
<i>Amibes</i>	17
Entamœba coli	17
Entamœba dysenteriae	18
Entamœba dispar, hartmanni	23
Endolimax, Pseudolimax, Dientamœba	27
III. Recherche des kystes	28
<i>Enkystement</i>	28
<i>Procédés d'enrichissements</i>	31
Telemann-Langeron	32
Telemann-Rivas	32
Telemann modifié	32
Carles et Barthelemy	33
Bayer modifié	34
Yorke-Adams	34
Yorke-Bidegaray	36
<i>Description des kystes</i>	37
IV. Recherche des formes végétatives	40
<i>Modes d'obtention de la diarrhée</i>	41
<i>Choix de la selle et conservation</i>	42
<i>Examen des selles fraîches</i>	45
<i>Identification sur frottis colorés</i>	49
Préparation des frottis	49
Fixation	49
Coloration par l'hématoxyline-ferrique	50
— — la méthode de Mann	52
Caractères des protozoaires sur les frottis colorés	53
Causes d'erreur	58
<i>Cultures d'amibes</i>	62
V. Conclusions	66
VI. Bibliographie	69

IMPRIMERIE CHAIX, RUE BERGÈRE, 20, PARIS. — 8762-5-31. — (Encre Lorilleux).
